

FACULTE MIXTE

DE

MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N^o

4

Unité physiologique du système osseux
et mode d'action de la Vitamine D

THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE
DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE
ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Le Octobre 1940

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

PAR

YVES MARCELET

né le 19 février 1913 à Nice

ANCIEN ASSISTANT DE CHIMIE BIOLOGIQUE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE.

Examineurs de la Thèse	{	MM. ROCHE, Professeur, <i>Président</i> .	{	<i>Assesseurs.</i>
		CHEVALLIER, Professeur,		
		GIRAUD, Professeur,		
		MALMÉJAC, Professeur s. ch.		

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME

1940

FACULTE MIXTE

DE

MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N°

Unité physiologique du système osseux
et mode d'action de la Vitamine D

THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE

DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE

ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Le Octobre 1940

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

PAR

YVES MARCELET

né le 19 février 1913 à Nice

ANCIEN ASSISTANT DE CHIMIE BIOLOGIQUE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE.

Examineurs de la Thèse	{	MM. ROCHE, Professeur, <i>Président</i> . CHEVALLIER, Professeur, GIRAUD, Professeur, MALMÉJAC, Professeur s. ch.	}	Assesseurs.
---------------------------	---	--	---	-------------

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME

1940

PERSONNEL DE LA FACULTÉ MIXTE

DE

MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Doyen : Lucien CORNIL

Assesseur : A. CHEVALLIER

Doyen honoraire : L. IMBERT

Professeurs honoraires : MOITESSIER, CASSOUTE

Chargés de Cours honoraires : TIAN, BRUN.

Secrétaire : J. COMTE

Bibliothécaire : M^{lle} GEORGE

Professeurs :

Anatomie.....	CORSY
Anatomie pathologique et Pathologie expérimentale.....	CORNIL
Bactériologie.....	ROUSLACROIX
Chimie analytique et hydrologie.....	RIMATTEI
Chimie médicale.....	ROCHE
Clinique chirurgicale.....	FIOLE
Clinique chirurgicale.....	BOURDE
Clinique exotique.....	HECKENROTH
Clinique des maladies nerveuses.....	ROGER
Clinique médicale.....	AUDIBERT
Clinique médicale.....	OLMER
Clinique médicale.....	MATTEI
Clinique médicale infantile.....	GIRAUD
Clinique obstétricale.....	VAYSSIÈRE
Clinique ophtalmologique.....	AUBARET
Clinique Oto-Rhino-Laryngologique.....	BREMOND
Clinique urologique.....	CHAUVIN
Histoire naturelle.....	GABRIEL
Histologie.....	ROMIEU
Hygiène générale et coloniale.....	VIOLE
Médecine légale.....	MOSINGER
Parasitologie.....	JOYEUX
Pathologie interne.....	MONGES
Pharmacodynamie et matière médicale.....	F. MERCIER
Pharmacie.....	VIGNOLI
Physiologie.....	COTTE
Physique.....	CHEVALLIER
Thérapeutique.....	GAUJOUX
Stomatologie (Professeur sans chaire).....	BELTRAMI
Physiologie (Professeur sans chaire).....	MALMÉJAC



Chargé de cours :

Clinique dermatologique VIGNE

Agrégés en exercice :

MM. PIÉRI	MM. SAUTET	MM. ARNOUX
JAYLE	BALANSARD	DELPHAUT
MOIROUD	BRAHIC	IMBERT
CARCASSONNE	FIGARELLA	AUDIER
BERTHIER	SALMON	CHOSSON
POINSO	PAILLAS	DOR
DUBOULOZ		RECORDIER

Agrégé libre :

M. QUINTARET

Chargé des fonctions d'agrégé :

Chimie médicale DERRIEN

Chargés de Cours complémentaires :

Anatomie descriptive et topographique	SALMON
Chimie minérale	ARNOUX
Médecine du travail	PERIOT
Médecine opératoire	DOR
Microbiologie	QUINTARET
Obstétrique	CHOSSON
Pharmacodynamie aux Pharmaciens	DELPHAUT
Psychiatrie	ALLIEZ
Toxicologie	GUILLOT
Chimie médicale	DUMAZERT



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A LA MÉMOIRE DE MADAME A. ROCHE

CHARGÉE DES FONCTIONS D'AGRÉGÉ DE CHIMIE BIOLOGIQUE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE
CHARGÉ DE RECHERCHES (CAISSE NATIONALE DES SCIENCES).

Elle avait bien voulu me confier ce travail dès le début de mes études ; sa disparition brutale est venue interrompre notre collaboration, mais la confiance dont elle m'avait honoré m'a permis de poursuivre cette thèse sous les conseils du Professeur ROCHE.

Je garderai vivant dans mon esprit et dans mon cœur le souvenir d'un Maître dont l'enseignement et la belle droiture doublés des qualités de la vraie femme française ont toujours su gagner avec l'admiration de ses élèves leur affection.

A MON MAÎTRE, MONSIEUR LE PROFESSEUR J. ROCHE

Qui a bien voulu m'accepter dans son laboratoire. Ses conseils, ses encouragements, n'ont pas été ménagés pour poursuivre ce travail. Je lui exprime toute ma reconnaissance. Mais ma plus profonde gratitude provient de l'amitié délicate et simple dont il m'honore et qu'il a étendue aux miens. Je dédie mon admiration au Maître, ma reconnaissance au Professeur, à l'Ami ma respectueuse et sincère affection.

A MA FEMME

*Je dédie affectueusement ce
travail dans lequel j'ai mis le
meilleur de moi-même.*

A MON PÈRE, HENRI MARCELET

DOCTEUR EN PHARMACIE
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
LAURÉAT DE L'INSTITUT.

*Sa vie est pour moi le plus
bel exemple de la persévérance
et du travail acharnés et obs-
curs, qui sont les qualités du
vrai Savant.*

ET

A MA MÈRE, RÉGINE MARCELET

PHARMACIEN

*Son courage, sa formation
scientifique et son dévouement
ont fait de sa vie la plus belle
ligne de conduite qu'il me soit
permis de suivre.*

*Ils ont fait de moi un homme,
je leur dois tout. Puissent-ils
trouver par ce travail un mo-
deste gage de mon affection.*

A MA SŒUR
PIERRETTE

A MON FRÈRE JEAN
ÉTUDIANT EN PHARMACIE

A MON JURY DE THÈSE

Ma reconnaissance et mon respect.

A MES CAMARADES
DU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE

TABLE DES MATIÈRES.

INTRODUCTION.

	Pages.
I. — Généralités sur la nature du squelette et sur son développement	11
II. — Biochimie générale de la formation de la substance osseuse	17
III. — Biochimie générale du développement squelettique..	23
IV. — Les facteurs alimentaires de la croissance et de la calcification des os	26
<i>Equilibres salins du régime</i>	26
<i>Action de la vitamine D</i>	30
V. — Les réserves minérales osseuses	37
VI. — Objet de notre travail	40

PREMIÈRE PARTIE.

Variations de la composition du squelette au cours de la croissance et unité physiologique du système osseux.

I. — Introduction et objet du travail	43
II. — Marche des expériences et techniques	46
III. — Résultats expérimentaux	48
IV. — Discussion des résultats	53
A. — Les variations du rapport : P/N des divers os et des dents pendant la croissance et à l'état adulte. Signification physiologique de ces variations	56
1. — Evolution générale de la minéralisation des divers organes osseux au cours de la vie	56
2. — Comportement particulier des diverses pièces squelettiques	58
B. — Modifications de la composition des os au cours de la vie et biochimie générale du système osseux	61
V. — Résumé et conclusions	62

SECONDE PARTIE.

Sur l'action de la vitamine D et des déséquilibres salins alimentaires dans les processus d'ossification. Sensibilité comparée des os longs et des os plats.

I. — Introduction et objet du travail	64
II. — Marche des expériences et techniques	65
III. — Résultats expérimentaux	68
IV. — Examen d'ensemble et discussion des résultats	85
A. — Examen d'ensemble des résultats	90
1. — Régime équilibré en sels	90
2. — Régime déséquilibré par excès de calcium	95
3. — Régime déséquilibré par excès de phosphate et par excès de radicaux acides.	96
B. — Discussion des résultats	97
1. — Sensibilité comparée des animaux en croissance et des animaux adultes aux facteurs alimentaires de dystrophie et à la vitamine D	97
2. — Sensibilité comparée des os longs et des os plats aux facteurs alimentaires de dystrophie et à la vitamine D....	98
3. — Sur le mode général d'action de la vitamine D	101
4. — Sur l'influence de la composition du régime et de l'âge du sujet sur l'action de la vitamine D	105
V. — Résumé et conclusions	108
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	111
BIBLIOGRAPHIE	113

INTRODUCTION.

Le nombre des travaux qui ont été consacrés à l'ossification est considérable. Les plus anciens auteurs se sont attachés principalement à l'étude statique des os et des dents, mais l'étude dynamique de ces organes, plus récente et moins avancée, est restée longtemps dans l'ombre à cause des difficultés d'expérimentation qu'elle comporte. Ce n'est qu'à la suite de constatations cliniques sur les maladies du squelette et en étudiant les diverses formes de ces maladies que l'expérience est venue apporter une contribution nouvelle aux problèmes de la biologie osseuse. Les résultats de l'étude dynamique du système osseux sont aussi importants que ceux de son étude statique, car ils les complètent et permettent de comprendre certains processus physiologiques de l'ossification.

Au cours d'un travail sur la composition chimique des cendres d'os, S. MORGULIS [50] a pu écrire « Avoir une idée nette de la composition de l'os est essentiel pour l'interprétation de sa formation au sein de l'organisme vivant ». Aussi convient-il avant d'aborder le sujet de ce travail de résumer quelques généralités sur la nature du squelette et sur son développement. Nous ne saurions certes faire une mise au point complète de cette question. Nous avons seulement rappelé quelques-unes des théories actuellement admises sur l'ossification afin de mieux situer divers points particuliers de la biochimie statique et de la biochimie dynamique du tissu osseux qui font l'objet de ce travail.

I. — Généralités sur la nature du squelette. Composition chimique des os.

Le squelette, support des tissus mous chez les vertébrés, est constitué par un ensemble d'organes, les os, qui présentent malgré une grande analogie de composition chimique

une diversité de structure histologique et anatomique considérable. La biochimie s'est efforcée depuis longtemps d'en définir la constitution et d'en faire l'étude statique. Schématiquement on peut considérer un os comme formé par une « matrice protéique conjonctive sur laquelle sont fixés des sels » (ROCHE [58]). Cette définition pose deux problèmes, à savoir l'étude de la partie protéique et celle de la partie minérale des os.

ETUDE DE LA PARTIE PROTÉIQUE.

Nos connaissances actuelles ne permettent pas encore de définir exactement la nature des protéines osseuses en raison de l'insuffisance de nos méthodes de séparation et d'analyse. Certains produits ont néanmoins pu être isolés et leurs caractères ont été décrits ; toutefois on ne saurait les considérer comme des protéines définies ; ce sont probablement des mélanges. On a pu mettre en évidence la présence d'osséine, dont la composition élémentaire est : C = 50 p. 100 ; H = 2 p. 100 ; N = 18 p. 100 ; S = 0,7 p. 100. C'est ce produit dont la dénaturation et l'hydrolyse partielle donne industriellement naissance à la gélatine. On a pu préparer deux autres protéines appelées respectivement : osséomucoïde et osséoalbuminoïde. Quant à la moëlle, elle est formée de tissu connectif lache, de vaisseaux et de nerfs englobés dans de la matière grasse (GARCIA [19]).

ETUDE DE LA PARTIE MINÉRALE.

La partie minérale des os a été par contre l'objet de très nombreuses recherches, et l'on peut se représenter d'une façon assez précise la composition de ce que les écoles anglaises et allemandes désignent sous le nom de « sel de l'os ». L'étude du complexe minéral constituant le sel de l'os est des plus importantes pour comprendre le mécanisme de la formation de ce sel et sa fixation sur la matrice protéique. De nombreux travaux ont été déjà publiés à cet égard, et si les résultats paraissent différer, c'est que les méthodes chimiques mises en œuvre pour atteindre les dépôts phosphocalciques de l'os ont été des plus diverses.

L'étude spectrographique des cendres (spectre d'émission) a permis ces dernières années de déceler des traces de très

nombreux métaux ou métalloïdes ainsi que l'ont montré F. LOWATER et M. M. MURRAY [40]. Mais tous les constituants minéraux de l'os n'ont pas une égale importance et l'analyse quantitative effectuée sur des fémurs et des dents chez l'homme ou divers animaux a permis d'établir des données très utiles. Les résultats obtenus en 1894 par GABRIEL [20] et en 1931 par MORGULIS [50] sur la composition comparée de la cendre des vertébrés d'animaux appartenant à divers ordres de vertébrés ont permis d'établir les deux tableaux de la page 14, dont le premier illustre clairement la parenté de composition des os et des dents. Ceci étant il n'est pas surprenant que les problèmes posés par la formation des os et des dents soient à bien des égards identiques, malgré la diversité de structure des uns et des autres.

L'examen de ces tableaux montre que les sels de calcium et les composés du phosphore sont les principaux constituants du sel de l'os alors que les autres molécules ne paraissent avoir qu'un rôle accessoire.

L'analyse qualitative ayant montré la présence de divers sels de calcium, on s'est demandé quelles sont les molécules salines renfermant le calcium de l'os. Sont-elles associées en une combinaison définie et se rencontrent-elles en proportions fixes ou variables ? Divers auteurs, en particulier HOLT, LA MER et CHOWN [28] ont établi l'existence de $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$ par le fait suivant : si on admet que tout l'acide carbonique du tissu s'y trouve à l'état de carbonate de chaux, l'excès de calcium dit « calcium résiduel » existe en quantité telle que le rapport : phosphore/calcium présente une valeur égale à celle correspondant théoriquement au phosphate tricalcique. Celui-ci se formerait aux dépens de phosphate monocalcique apparaissant primitivement (SHEAR et KRAMER [70]). Cette hypothèse laisserait supposer qu'on doit retrouver du phosphate monocalcique ; or il n'en est rien et, suivant MORGULIS, s'il existait du phosphate monocalcique dans l'os, on obtiendrait par incinération du pyrophosphate et ce n'est qu'après hydrolyse qu'il se formerait de l'orthophosphate ; or celui-ci s'obtient directement. Actuellement presque tous les auteurs sont d'accord pour admettre que l'acide phosphorique est combiné au calcium du tissu osseux sous la forme de phosphate tricalcique.

TABLEAU I.

*Composition de la partie minérale des os et des dents (GABRIEL)
(p. 100 du poids des cendres).*

Constituant	Fémur d'Homme	Fémur de Bœuf	Dent de Bœuf
CaO	51,31	51,28	50,76
MgO	0,77	1,05	1,52
K ₂ O	0,32	0,18	0,20
Na ₂ O	1,04	1,09	1,16
H ₂ O de cristallisation .	2,46	2,33	2,21
P ₂ O ₅	36,65	37,46	38,88
CO ₂	5,86	5,06	4,09
Cl	0,01	0,04	0,05
F	0,23	0,30	0,10
H ₂ O de constitution .	1,32	1,37	1,27
Total	99,97	100,16	100,24

TABLEAU II.

*Composition centésimale de la partie minérale des vertèbres
de divers animaux (MORGULIS).*

Animal	Teneur p. 100 en				
	Ca	Mg	K	P	CO ₂
Roussette .	37,00	0,58	0,44	16,70	3,23
Maquereau	36,74	0,76	0,20	17,42	2,79
Grenouille	36,09	0,72	0,44	16,45	4,67
Crapaud .	36,62	0,61	0,36	16,15	4,11
Tortue ...	35,68	0,62	0,98	14,88	5,63
Poulet ...	37,24	0,51	—	16,40	5,50
Lapin	36,25	0,53	0,92	15,99	5,71
Vache	36,05	0,74	0,85	16,43	4,58
Chien	35,66	0,46	1,87	15,56	5,62
Cobaye ...	35,43	0,75	—	15,78	5,03

Nous devons nous demander alors sous quelle forme est combiné l'excès de calcium tissulaire. HOPPE-SEYLER [30], HOLT, LA MER et CHOWN [29], BOGERT et HASTINGS [4], GASSMANN [21], LOGAN et TAYLOR [37] estiment que c'est à l'état de carbonates et KLEMENT [33] à l'état d'hydrate de calcium. Cette dernière hypothèse est du reste basée sur l'expérience suivante : si on agite du phosphate monocalcique pur, solide, avec une solution tampon de carbonate de sodium à 37° pendant plusieurs semaines, il s'établit progressivement un équilibre tel que la phase solide correspond à la formule $6(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ appelé « phosphate semi-basique », avec de petites quantités de carbonate de calcium. Il est donc difficile de préciser les formes exactes sous lesquelles existe ce calcium non combiné et cela d'autant plus que les radicaux phosphoriques et carboniques de la poudre d'os mise en suspension dans divers milieux peuvent se remplacer mutuellement à partir d'ions PO_4^- et CO_3H^- présents dans la solution (LOGAN). Quoiqu'il en soit, cette étude sommaire de la composition du sel de l'os nous permet de considérer le phosphate et le carbonate de calcium comme les principaux constituants minéraux de celui-ci.

La constitution du sel de l'os est-elle fixe ou susceptible de subir des variations ? Ici encore les auteurs, HOPPE-SEYLER [30], GASSMANN [21], MORGULIS [50], KLEMENT [33], BOGERT et HASTING [4] sont d'accord pour affirmer sa fixité. Et c'est surtout l'étude du spectre de rayons X réalisée par TAYLOR et SHEAR [79], ROSEBERY, HASTINGS et MOORE [66] qui a pu montrer l'existence dans tous les os de composés minéraux cristallins dont deux principaux : la dahlite $\text{CO}_3\text{Ca} \cdot 2(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3$ et la podolite $\text{CO}_3\text{Ca} \cdot 3(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3$, ayant le même indice de réfraction que l'émail dentaire et l'os. DE JONG confirme ces expériences et conclut que le sel de l'os a une structure cristalline définie et constante qui tend à le faire considérer comme un corps chimique défini du type des apatites. Cependant les auteurs ne sont plus d'accord sur la nature de ce composé et leurs conclusions établiraient que les carbonates et phosphates de chaux forment un mélange variable au niveau de l'os. HUGOUNENQ, LA MER et CHOWN, SHEAR et KRAMER [71] ont établi que le complexe phosphocalcique variait avec l'âge de l'animal. C'est ainsi que le rapport : Ca/P peut passer de 2,23 chez le Rat en croissance à

1,99 chez le Rat adulte. De même pour le régime où les auteurs précédents avec MAC CLURE et MITCHELL [42], BROOKE et SMITH [5] ont montré que le rapport étudié passait de 3,28 à 2,52 chez les Rats soumis pendant 90 jours à un régime pauvre en sels. MAREK, WELLMANN et URBANYI [41] ayant analysé les couches concentriques de divers os de Porcelets soumis à différents régimes comportant de la vitamine D, un excès de base ou de radicaux acides, concluent en ces termes : « Les combinaisons calciques ne sont pas contenues dans l'os sous forme d'un composé défini comme l'apatite par exemple. Par ailleurs il est remarquable que la partie extérieure de l'os subisse, lorsque l'animal est soumis à divers régimes, des variations de composition beaucoup plus considérables que les autres. Dans les diverses zones de l'épaisseur de l'os, le taux du phosphore est d'autant plus élevé qu'on se rapproche de la moëlle, tandis que la couche médiane est plus riche en Mg, Ca et CO_2 . La fraction de Ca non combinée à PO_4H_3 correspond, aux erreurs expérimentales près, à celle présente dans CO_3Ca , calculée d'après la teneur en CO_2 de l'os. Il est donc probable que tout le calcium osseux n'existant pas dans $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$ est contenu dans CO_3Ca . Par ailleurs, si on soustrait le calcium et le phosphore de CO_3Ca et de $(\text{PO}_4)_2\text{Mg}_3$, le rapport : Ca/P du résidu correspond à celui de $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$. Toutes ces données concourent à démontrer que le phosphate tricalcique et le carbonate de chaux existent dans l'os à l'état de mélange et non de combinaisons stables et définies ». Laquelle de ces opinions devons-nous admettre ? Il nous semble légitime de conclure avec POLICARD et ROCHE [54] à l'existence dans l'os d'un élément microcristallin, de composition définie, autour duquel se constitueraient les dépôts salins. Ceux-ci, de nature essentiellement variable et formés en quantités plus ou moins grandes selon les conditions physiologiques (âge, régime), formeraient la réserve minérale facilement mobilisable dont les mammifères disposent au niveau de leur squelette pour couvrir les besoins exigés par la régulation de l'équilibre acide-base, la lactation, la grossesse. Ainsi seraient conciliés d'une part l'existence dans la substance osseuse de complexes du type apatite de composition chimique bien définie et d'autre part la possibilité de modifications importantes du rapport $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3/\text{CO}_3\text{Ca}$, toutes deux paraissant bien établies par l'expérience.

Cette étude de la partie minérale de l'os nous a paru nécessaire pour la compréhension des mécanismes d'ossification et des variations que subit le squelette au cours de la vie, en particulier pour l'étude des os plats que nous allons aborder, et aussi pour comprendre les modifications que peut subir le système osseux sous l'action de la vitamine D.

II. -- Biochimie générale de la formation de la substance osseuse.

Du point de vue histologique le problème de l'ossification peut se diviser en deux parties à savoir (POLICARD et ROCHE [54]) : la formation du tissu osseux « problème d'histogénèse » et la formation des organes osseux « problème d'organogénèse ». Le tissu osseux lui-même est un complexe comprenant divers éléments histologiques : un feutrage de fibrilles (fibres de SHARPEY) sur lesquelles et entre lesquelles est localisée la substance osseuse. Sa formation est le problème biochimique le plus important lié à l'ostéogénèse ; son étude est le fondement de la biochimie générale de l'os. Organe osseux, tissu osseux, substance osseuse constituent trois étapes progressives de complication dans la formation des os. Seule la troisième est actuellement accessible à la biochimie. Il convient de distinguer dans la formation de cette substance osseuse deux éléments : d'abord un remaniement structural et chimique du territoire conjonctif qui va devenir substance osseuse et ensuite le dépôt de phosphate tricalcique. Le territoire conjonctif comporte des fibrilles collagènes qui croissent et s'orientent, puis apparaît un « œdème préosseux ». Il est certain que cet œdème va de pair avec des modifications de la nature des protéines, car certains caractères histochimiques de celles-ci (affinités pour divers colorants) se modifient profondément, mais il n'est pas possible actuellement de préciser quelles sont ces modifications et l'on doit se borner à affirmer leur existence.

Comment se forme la substance préosseuse ? Ici encore il faut distinguer deux parties du problème : la formation du support protéique et la calcification de celui-ci. Cette dualité dans la physiologie de la formation des os est un fait général dans les trois types de processus histologiques d'ossifica-

tion : membraneux, endochondral et haversien. L'ossification membraneuse des os plats est une « métaplasie directe du tissu conjonctif en tissu osseux », une calcification directe de la trame protéique. L'ossification endochondrale qui intéresse les os longs est une dégénérescence du cartilage selon un type spécial qui mène à la formation d'une matrice réticulaire puis à l'envahissement conjonctif de cette matrice (POLICARD [55]), et enfin au dépôt de substance osseuse à son contact ; elle serait une ossification temporaire continuée par le processus haversien dont le rôle principal serait de fixer en quelque sorte le tissu osseux primitif peu solide en un support dense et résistant. Cette ossification haversienne est du reste toujours secondaire, et contrairement aux deux autres, elle est un processus de remaniement. Enfin la formation de la substance osseuse dans les dents présente un caractère particulier tenant à l'hétérogénéité histologique de ces organes. Il est cependant à remarquer que ces modalités de l'ossification ne se reflètent pas dans la composition des os ; jusqu'ici du reste elles n'ont pu être étudiées qu'à l'échelon morphologique. Quoi qu'il en soit, le problème de la formation du support protéique est loin d'être résolu. Celui de la calcification par contre a été l'objet de nombreux travaux que nous allons examiner sommairement.

MÉCANISME DE LA CALCIFICATION. ORIGINE ET MODE DE FORMATION DES SELS.

La calcification étant fonction de l'apport de matériel inorganique, à savoir de phosphates et de calcium au niveau de la matrice protéique, plusieurs problèmes se posent à son sujet. Comment se fait cet apport de matériel et par quelle voie ? Sous quelle forme est-il transporté ; quelle est son origine, quel est le mécanisme de la précipitation de ces sels ? Tels sont les problèmes que nous allons étudier. La théorie des mutations calciques locales avait séduit de nombreux chercheurs il y a quelques années ; actuellement les hypothèses émises à ce sujet semblent plus étroites et sans les discuter nous pouvons considérer que l'apport du matériel minéral à la substance osseuse se fait par les humeurs dérivant du plasma. Nous avons vu que le principal sel existant dans les os était $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$ ou mieux un phosphocarbonate du type

apatite. Ce complexe peut avoir diverses origines, récemment bien étudiées par LOGAN [38] : soit des molécules simples $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$ et CO_3Ca , soit des complexes phosphocarbonate calciques $3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3 \cdot \text{CO}_3\text{Ca}$, soit des ions PO_4''' , Ca^{++} , CO_3'' , $\text{CO}_3\text{H}'$. On n'est pas renseigné d'une façon certaine sur le mode de fixation des divers constituants du sang participant à la calcification de la substance osseuse. D'après les recherches de GREEN et POWER, STEWART, HESS, BRULL, LARSON et TUFTS, SCHMIDT et GREENBERG, il semblerait que « le plasma et les humeurs en dérivant contiennent des combinaisons du type carbonatoapatite et $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$ à des taux très minimes, régis par la faible solubilité de ces corps. Les ions au contraire paraissent être l'apport principal de ce matériel calcique ; ils peuvent intervenir dans la calcification soit en permettant la formation dans les humeurs de molécules que la substance osseuse utilisera ultérieurement, soit par leur fixation directe sur celle-ci et leur participation à la formation de molécules salines. Mais il apparaît comme certain que c'est surtout l'apport ionique du matériel minéral qui constitue la principale source du sel de l'os » (FILIPPI [14]). Un remarquable ensemble de travaux poursuivis principalement par G. HEVESY [27], puis par divers auteurs américains (COHN et GREENBERG [10], MANLY et BALE [44]) apporte à cet égard des renseignements très utiles. Ces travaux basés sur l'administration (ingestion ou injection) de phosphates ou de diverses combinaisons phosphorées dans lesquelles le phosphore ordinaire ^{31}P est remplacé par son isotope radioactif ^{32}P , ont permis de suivre la destinée dans un organisme d'ions contenant ^{32}P , qui de par son caractère radioactif est « marqué » et peut de ce fait être spécifiquement décelé et dosé dans les tissus. Des expériences reposant sur ce principe, inaugurées par HEVESY, ont établi que même chez l'adulte, il s'opérait de manière continue un échange de phosphore entre les humeurs et l'os ou les dents, échanges ayant lieu sous forme d'ions PO_4''' . Ces résultats et les observations de LOGAN et TAYLOR [37] sur la solubilité du sel de l'os mettent en relief le rôle de ces ions dans la formation de la substance osseuse.

Parmi les trois ions formant le phosphocarbonate de calcium, PO_4''' et Ca^{++} sont apportés au sang par l'alimentation ou par des réserves, et véhiculés par les humeurs à un taux

minime avons-nous dit ; par contre l'acide carbonique et les ions dérivant de la dissociation de ses sels sont présents en abondance dans les mêmes milieux où ils sont continuellement déversés par les cellules qui les produisent, aux dépens de l'oxydation des corps organiques. Aussi est-ce le problème de l'apport d'ion PO_4''' et Ca^{++} que nous allons envisager. On trouve de 3 à 6 milligrammes de phosphore et de 10 à 15 milligrammes de calcium par 100 centimètres cubes de plasma chez les divers mammifères. Si la totalité de l'un et de l'autre élément était présente à l'état d'ions PO_4''' , et Ca^{++} , le milieu serait saturé en phosphate de chaux. Or il n'en est rien et on peut affirmer que le calcium ionisé ne dépasse pas de 20 à 40 p. 100 de la calcémie, alors que presque tous les phosphates plasmatiques sont dissociés en ions ; or ces concentrations ioniques en PO_4''' et Ca^{++} sont inférieures à celles correspondant au produit de solubilité de ces ions.

Les ions PO_4''' et Ca^{++} se trouvant en présence vont se combiner et former du phosphate tricalcique dans un équilibre régi par la loi d'action de masse. Cette loi prévoit en effet que lorsqu'il se forme un sel insoluble, l'équilibre des ions réagissant et du sel auquel ils donnent naissance, dont la solution est saturée puisqu'il existe un précipité de ce sel, est tel que le produit de la concentration des ions présents, dit produit de solubilité (S), est égal à la concentration des molécules de sel en solution et constant dans des conditions de température et pression déterminées :

$$(\text{PO}_4''')_2 (\text{Ca}^{++})_3 = [(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3] = \text{S}$$

Comme l'ont récemment établi LOGAN et TAYLOR [37] au cours de remarquables travaux sur la solubilité du sel de l'os, le produit de solubilité des ions PO_4''' et Ca^{++} augmente quand la quantité de sel de l'os en équilibre avec un même volume de solution diminue. Mais de toute manière les sels de l'os ne peuvent pas précipiter spontanément du plasma tant que leur produit ionique n'est pas augmenté, et, une fois formés, ils ne peuvent se dissoudre qu'autant que le produit de la concentration des ions les composant s'abaisse au-dessous des concentrations existant dans le plasma sanguin. Par ailleurs, la fixation directe d'ions PO_4''' en remplacement des radicaux CO_3 , possible *in vivo* (LOGAN [38]) dans des fragments osseux peut aussi avoir lieu *in vivo*.

L'ENRICHISSEMENT LOCAL EN PHOSPHATES ET LA PHOSPHATASE DES OS.

Ces différents problèmes ayant été posés, il nous reste à étudier le mécanisme de l'enrichissement local en ions PO_4''' . SHIPLEY, KRAMER et HOWLAND, ROBISON [75] ont réalisé des expériences de calcification *in vitro* dont le principe est le suivant : lorsqu'on immerge un fragment de tissu ossifiable, par exemple du cartilage conjugal d'un tibia de jeune Rat dans une solution contenant un sel de calcium et qu'on ajoute à celle-ci des phosphates alcalins en proportion croissante, on provoque la calcification du cartilage d'autant plus intensément que le milieu est plus riche en phosphates. Puis Miss FELL, KAY, Miss ROSENHEIM et ROBISON montrèrent que dans la calcification *in vivo* un enzyme existant dans l'os jeune, se montrait capable de dédoubler de nombreux esters phosphoriques à partir desquels il libérait des ions phosphoriques et l'alcool existant dans le produit hydrolysé. On a donné le nom de phosphatase à cet enzyme.

Comment la phosphatase participe-t-elle à la calcification des os et dans quelles conditions ? Cette phosphatase appelée aussi « bone enzyme » (enzyme des os) a été extraite par macération aqueuse des os ; ses caractères principaux sont les suivants : un pH optimum d'action égal à 9-10, une activité plus grande sur le β que sur l' α glycérophosphate de soude et une activation marquée par Mg^{++} . Nous renvoyons à la thèse d'A. FILIPPI [14] pour des renseignements précis sur les propriétés et la préparation de la phosphatase des os. D'après FOLLEY et KAY cet enzyme serait une phosphomono-estérase de la classe A type I, probablement identique à celle existant dans le rein, la muqueuse intestinale, les leucocytes, le plasma. Divers auteurs dont ROBISON, POLICARD, ROCHE, PÉHU et BOUCAUMONT ont montré que « la richesse en enzyme des différentes zones histologiques est proportionnelle à l'intensité des processus d'ossification dont elle est le siège ». Le cartilage de conjugaison en est riche, la métaphyse aussi alors que le cartilage hyalin n'en a pas.

ROBISON [57] considérant ces faits propose le schéma suivant :

Plasma sanguin

Solution saturée de « sel de l'os » renfermant des esters phosphoriques : $(\text{PO}_4^{\ominus})^2$, $(\text{Ca}^{++})^3 = [(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3] = \text{S}$, produit de solubilité



Lymphes interstitielle (au contact de l'os)

Par action de la phosphatase sur les esters : libération de $\text{PO}_4^{\ominus}$.
Le milieu devient sursaturé en « sel de l'os » $[(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3] > \text{S}$.



Tissu calcifié

$(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3 = \text{phase solide}$

Ce schéma semble actuellement incomplet, car il ne tient compte que d'un seul mode de calcification ; aussi l'a-t-on appelé « premier mécanisme » ou « mécanisme phosphatasique » de ROBISON. En effet le « second mécanisme d'ossification » est la fixation du phosphate tricalcique par la matrice protéique. De nombreuses expériences ont du reste permis de mettre en évidence cette dualité des processus de l'ossification, car il est facile d'inhiber l'un en conservant l'autre intact. En résumé l'étude de cette phosphatase est assez complexe et nous emprunterons à J. ROCHE, A. FILIPPI et A. LEANDRI [60] les conclusions qu'il convient d'en tirer :

« La phosphatase participe aux trois processus histologiques de l'ossification, à savoir : les processus endochondral, membraneux et haversien. Les épiphyses et la diaphyse des os longs présentent une activité phosphatasique importante uniquement au début de la croissance. Dans les os des animaux jeunes, l'enzyme est physiologiquement activé à peu près de façon maxima par des corps qui l'accompagnent dans l'os ; l'addition d'ions Mg^{++} n'augmente que faiblement son pouvoir hydrolytique. Au contraire, chez les animaux pré-adultes ou adultes, l'activité de la phosphatase est naturellement très minime, mais elle est fortement accrue par la présence d'ions Mg^{++} ».

« La phosphatase est un facteur d'accélération de la calcification, mais celle-ci peut évoluer en dehors de tout processus enzymatique important. L'activité du système phosphatasique

participant à ce dernier processus est régie à la fois par la sécrétion de l'enzyme et par la présence de ses divers activateurs ».

Enfin nous ne saurions passer sous silence le rôle des glandes endocrines dans l'ossification. Diverses manifestations telles que le gigantisme, l'ostéoporose de la grossesse sont les conséquences d'un mauvais fonctionnement de ces glandes endocrines sur le développement ou la formation du squelette. L'action des glandes parathyroïdes dans la fixation du calcium organique n'est plus à démontrer actuellement. De nombreuses expériences ont été réalisées et l'examen de cas pathologiques a précisé que « le rôle des parathyroïdes consiste essentiellement dans la régulation de la fixation des sels de chaux au niveau des os » (FLORENTIN [15]). Il est probable que d'autres glandes endocrines exercent également un contrôle sur la calcification des os ; le rôle de l'hypophyse, de la thyroïde, de l'ovaire et des surrénales étant très probable. Mais il est encore difficile de se faire à cet égard une opinion très précise. Aussi n'est-il pas surprenant que l'on ne puisse souvent pas préciser de manière absolument satisfaisante l'origine de troubles de l'ossification du type rachitique, ni en régler la thérapeutique de manière uniforme (V. EDEL [13 bis]).

III. Biochimie générale du développement squelettique.

La biochimie de la croissance et de l'évolution du squelette est dominée par deux problèmes, à savoir : l'étude du développement proprement dit et celle de la calcification du squelette et de son évolution au cours de la vie. Le développement du squelette est surtout un problème d'organogénèse ; il est lié à diverses questions physiologiques telles que les influences hormonales, et à d'autres intéressant l'économie générale telles que l'influence du facteur alimentaire. La calcification dont nous avons déjà étudié le mécanisme « statique » doit en outre être étudiée au cours de l'évolution du système osseux.

Le squelette de tous les êtres vivants se développe selon des modalités spéciales à chacun. Les processus qui régissent les transformations subies par l'organisme au cours de son existence sont fort complexes. On peut distinguer dans le développement du squelette tout d'abord une transformation

du tissu conjonctif en tissu osseux, laquelle peut s'opérer au sein même de membranes fibreuses : c'est l'ossification dite « de membrane », ou bien au sein d'une sorte de matrice de cartilage mort contenant du tissu conjonctif : c'est la transformation de la ligne d'ossification des os longs en substance osseuse, puis l'organisation de celle-ci en tissu osseux. Ce processus, dit « endochondral », est sous la dépendance d'influences hormonales ; c'est ainsi que le développement du squelette est arrêté ou devient anormal dans les cas d'ablation ou de lésion des glandes thyroïdes. Des influences nutritives se manifestent également : le régime est en effet, comme nous le verrons plus loin, l'un des facteurs principaux de modifications de la composition des os et par là même de leur développement. Elles jouent un rôle indirect très important dans le rachitisme infantile et c'est grâce à leur mise en jeu que l'on réalise le plus facilement le rachitisme expérimental.

La calcification du squelette est donc liée au dépôt des sels sur la matrice protéique et à l'intensité de ce dépôt. J. ROCHE et A. LÉANDRI [60] ont étudié la teneur en phosphatase des os longs du Rat au cours de la croissance ; leurs résultats rapprochés de ceux d'A. ROCHE et I. GARCIA [61] sur l'étude du rapport : P/N dans les mêmes conditions, ont montré que la phosphatase existe en proportions assez élevées dans l'os jeune et disparaît en grande partie chez l'animal préadulte au moment où la calcification est la plus intense. Cette période correspond au moment où l'os organise sa matrice protéique tout en se minéralisant (100 à 150 gr. de poids corporel chez le Rat). C'est là certainement la période la plus importante de la calcification.

Quelles sont les conditions qui commandent le dépôt et la fixation des sels dans la matrice protéique ? Ici encore de nombreuses hypothèses peuvent être émises et aucune n'a pu être vérifiée, la plupart s'étant même avérées inacceptables. On a pensé à une intervention des corps lipidiques, des nucléoprotéides, à une précipitation de $(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3$ en sursaturation dans le sang et les humeurs baignant la matrice protéique, à une variation locale de la teneur en acide carbonique dans la précipitation des sels de calcium sur la matrice protéique ou enfin à une variation de pH dans le dépôt du complexe phosphocalcique.

Le développement du squelette se poursuit-il d'une façon

continue et comment a-t-on pu l'étudier ? Les travaux effectués depuis 1933 par A. ROCHE, J. ROCHE et I. GARCIA ont montré par l'étude du rapport : P/N que la formation et la calcification du squelette s'opéraient par étapes successives. En effet après la naissance, le squelette s'accroît rapidement, mais il n'est formé que de pièces peu calcifiées ; les os se développent ensuite en se chargeant de sels jusqu'à l'âge préadulte. Dans cette période jusqu'à l'âge adulte, le squelette continue à s'accroître notablement sans se charger en matériel phosphocalcique, et ce n'est que dans la dernière période de la vie, quand leur développement est achevé, que les os se chargent en sels minéraux formant des réserves facilement mobilisables. En somme on peut considérer que pendant un premier temps, il se forme surtout un tissu osseux fondamental, tandis que dans un second les pièces squelettiques constituent des réserves salines. On s'explique de ce fait que le rachitisme humain, maladie de la croissance osseuse, se manifeste uniquement aux époques de la vie où les os se développent activement (MOURIQUAND).

Dès lors nous sommes amenés à considérer cette substance osseuse solide et dure à laquelle on attribuerait volontiers une fixité absolue comme l'un des matériaux les plus labiles de l'organisme. Telle est également la conception découlant directement des expériences d'HEVESY, KRON et LUNDGAARD [27], basées sur l'emploi de l'isotope radioactif ^{32}P du phosphore ordinaire ^{31}P citées plus haut. Ces auteurs ont en effet constaté que ^{32}P se fixe dans les os et les dents d'animaux adultes dans les douze heures suivant son ingestion à l'état de phosphate, mais que les uns et les autres organes perdent en quelques jours les ions phosphoriques renfermant ^{32}P . Il existe donc un échange continu d'ions PO_4''' entre les os et les dents d'une part et les humeurs d'autre part. Ce n'est du reste là qu'un aspect des remaniements de la substance osseuse, car les remaniements haversiens dont le mécanisme est tout autre interviennent aussi efficacement pour modifier la composition minérale des os. Cette variation perpétuelle constitue ce que l'on a appelé parfois « la loi de l'os » ; c'est elle qui régit l'adaptation remarquable du tissu osseux aux exigences qu'il rencontre au cours de son développement. « La substance osseuse ne s'immobilise qu'après la mort de l'organisme. Alors seulement elle acquiert cette fixité qui fait qu'après des

siècles on peut la retrouver non modifiée avec les mêmes propriétés, la même structure » (POLICARD et ROCHE [54]).

Les problèmes que nous venons de passer en revue sur la nature du squelette, la formation de la substance osseuse et le développement squelettique ne sont pas encore entièrement résolus.

L'étude dynamique de ces problèmes est indispensable pour compléter et pour généraliser les données antérieurement exposées. Nous allons montrer dans les chapitres suivants quelle est l'action des divers facteurs alimentaires sur le squelette et en particulier le rôle que peut jouer la vitamine D sur le système osseux.

IV. - Les facteurs alimentaires de la croissance et de la calcification des os, Action de la vitamine D.

Nous avons vu que l'organisation du tissu osseux qui présidait à la croissance et à la calcification des os est sous la dépendance de plusieurs facteurs, et en particulier de facteurs alimentaires. Ceux-ci jouent plusieurs rôles, qui se complètent du reste, à savoir :

1°) Rôle de matériel nécessaire à la construction du tissu osseux ;

2°) Rôle de régulateur dans la calcification des os ; c'est là surtout le rôle de la vitamine D et probablement de la vitamine C, car le scorbut s'accompagne de fragilité osseuse allant parfois jusqu'à des fractures spontanées.

EQUILIBRES SALINS DU RÉGIME ET OSSIFICATION.

Quelles sont les conditions de composition en sels qu'un régime doit remplir pour que l'organisme puisse se développer normalement et en dehors de toute lésion ? Le phosphore et le calcium étant les deux composés minéraux les plus importants du sel de l'os, c'est sur eux que les chercheurs ont fait porter leurs investigations. On sait depuis longtemps que le manque de phosphore ou de calcium, ou seulement un déséquilibre du rapport : Ca/P dans l'alimentation, sont à l'origine de nombreuses dystrophies osseuses voisines du rachitisme humain. En 1842 CHOSSAT [9] donnant

à des Pigeons une alimentation pauvre en calcium observa chez ceux-ci un état de fragilité des os. FORSTER [16] en 1876 administrant un régime dépourvu de calcium à des Chiens constate une déminéralisation sensible de leurs os avec une baisse des teneurs en phosphore et en calcium de ceux-ci. De même KORENCHEVSKY [34] en 1921 a provoqué des lésions du squelette chez de jeunes animaux recevant des régimes privés de calcium. Depuis 1921 certains auteurs ont étudié systématiquement le rôle de la carence en phosphore dans le rachitisme expérimental. En effet MAC COLLUM, SIMMONDS, SHIPPLEY et PARKS [77], SHERMANN et PAPPENHEIMER [73] plaçant de jeunes Rats à l'obscurité pour éviter l'action des rayons ultra-violetes empêchant l'apparition du rachitisme, et leur administrant un régime très pauvre en phosphore, provoqueront la formation de lésions rachitiques dans leur squelette. Du reste nous ne saurions mieux montrer l'importance de l'ion phosphorique dans la fixation du calcium sur le squelette qu'en rapportant l'opinion de MOURIQUAND [49] à ce sujet : « Le manque de phosphore compromet la nutrition osseuse au cours du rachitisme expérimental ; tout se passe comme si sa présence était nécessaire pour que (au moins chez les animaux privés de lumière) la calcification des cartilages ait lieu, rendant possible une ostéogénèse normale. Dans ce cas, le phosphore agirait non seulement par sa quantité (les expériences montrent qu'une quantité donnée est nécessaire), mais aussi par sa qualité, par sa présence ».

D'après ces données devons-nous conclure que le rôle du phosphore et du calcium sont importants séparément et surtout que les troubles de l'ossification sont provoqués par des déficiences de l'un ou de l'autre de ces deux éléments ? Certainement non et c'est encore aux travaux de MAC COLLUM et de ses collaborateurs que nous devons nous rapporter pour comprendre l'importance du rapport : Ca/P. Cela ne veut pas dire d'ailleurs que leurs prédécesseurs n'aient pas compris l'importance de ce rapport puisqu'en somme ils avaient observé que la carence en phosphore ou en calcium dans un régime, donc un changement du rapport, provoquait les lésions qu'ils remarquaient. MAC COLLUM établit en effet que, lorsque le rapport : Ca/P dépasse les limites comprises entre 1 et 2, le rachitisme apparaît. Remarquons cependant que les valeurs absolues de calcium et de phosphore ne sont pas

indifférentes et divers auteurs ont montré que l'efficacité d'un régime n'est pas indépendante de ces valeurs, qui expriment un besoin quantitatif de l'organisme pour l'élaboration du tissu osseux fondamental ou des réserves minérales. En d'autres termes, si le rapport : Ca/P reste constant, mais si les valeurs de Ca et de P varient, le rachitisme apparaît.

Un autre facteur d'équilibre et dont l'importance est aussi grande est le rapport : acide/base. On a en effet remarqué que les régimes alcalins ou acidogènes sont susceptibles de provoquer des troubles de l'ossification se traduisant dans ce cas aussi par une déminéralisation du squelette. Les expériences de BROOKE, SMITH et SMITH [5] en Amérique, celles de MAREK, WELLMANN et URBANYI [41] en Hongrie ont montré que ce fait était en liaison avec le rapport : Ca/P ; en effet, si ce rapport est élevé, le rachitisme apparaît car le régime est alcalin par un excès de calcium ; si au contraire Ca/P est bas, le rachitisme apparaît aussi, le régime étant acide. L'action rachitigène des céréales (farine de blé) relève d'un déséquilibre minéral complexe dans lequel entre en jeu à la fois la présence d'un excès de radicaux acides et celle d'un excès de phosphore apporté par l'acide phytique (HARRISSON et MELLANBY [24]).

Ces notions demandent quelques explications : dans le cas de l'alcalinité du régime, on note un excès de calcium ou de tout autre métal du même groupe, le strontium ou le magnésium, et nous avons vu que le régime était d'autant plus rachitigène que le rapport : Ca/P ou encore : alcalino-terreux/P était plus grand. Dans le second cas, qui est celui de l'acidité, le rapport : Ca/P est plus petit que 1 par un excès de phosphate monosodique ou de glycérophosphate de soude. Ces phosphates ou glycérophosphates sodiques dans le cas où le calcium est en excès vont déterminer un abaissement du pH humoral en raison des valences acides libres apportées par leurs produits d'hydrolyse. Par suite l'état d'acidose qui s'installe dans l'organisme provoque des lésions et une déminéralisation du squelette : c'est en effet ce que l'expérience a démontré dans les cas d'acidoses provoquées. Existe-t-il alors un rapport entre le départ de phosphates osseux et la réserve alcaline ? DENIS et MINOT [12], FABRIKANT et LABBÉ estiment qu'il n'en est pas ainsi, alors que d'autres auteurs RONA et TAKAHASHI [65], FREUDENBERG et GYORGY [17], BLUM, DELAVILLE

et VAN CAULAERT [3] pensent qu'il y a là un fait à retenir. On peut évidemment supposer que les phosphates interviennent dans la régulation de l'équilibre : acide/base au niveau du rein en agissant par leur système tampon, mais cela reste encore une hypothèse pour l'instant. Voyons enfin rapidement quelles sont les variations de pH nécessaires au dépôt du complexe phosphocalcique. On sait depuis longtemps que la réaction du milieu en ossification règle la mise en solution ou la précipitation des sels de calcium dans l'organisme, comme elle le fait dans les solutions salines contenant des ions PO_4''' et Ca^{++} (ROCHE et POLICARD [54]). Toutes les expériences tentées à ce sujet *in vitro* sont hypothétiques car il est très difficile de déterminer le pH dans les zones où se forme la substance osseuse et le seul fait que l'on puisse affirmer est que la réaction alcaline favorise la calcification.

L'étude de l'action des lipides du régime sur le métabolisme du calcium et du phosphore fut entreprise par KELLER il y a trente ans et reprise depuis par de nombreux auteurs. KELLER dosait le phosphore et le calcium excrétés par l'urine et les fèces d'animaux en expérience et recevant un régime déterminé en ces deux constituants, puis il ajoutait au même régime un excès de lipides. Il constatait alors que le taux du phosphore augmentait dans les urines et qu'il diminuait dans les fèces, par lesquels il était alors éliminé sous la forme de savon, à l'état d'oléate de calcium. En effet lorsqu'un excès de phosphore et de calcium est ingéré par l'organisme, cet excès est éliminé par les urines ; si on ajoute des acides gras en excès à un régime normalement équilibré en sels minéraux, ces acides gras vont se combiner au calcium pour former un savon de calcium dans la proportion d'une partie de calcium pour dix parties d'acides gras. Le phosphore qui se serait combiné au calcium se trouve libre, à l'état d'acide phosphorique, celui-ci passerait alors dans l'organisme et serait enfin éliminé par les urines. Des expériences du même ordre furent reprises avec le lait de Vache ; on montra que le lait écrémé n'avait aucun effet sur le métabolisme du phosphore et du calcium alors qu'au contraire le lait total, c'est-à-dire contenant les acides gras du beurre, provoquait les phénomènes décrits plus haut et en particulier le rachitisme. On confirma cliniquement toutes ces expériences et on constata alors que les idées des anciens cliniciens étaient

à cet égard erronées, lorsqu'ils croyaient que le rachitisme était dû à un manque de corps gras et que leur administration en grand excès devait le combattre, alors que l'inverse se produisait. C'est donc un excès de lipides qui est nuisible à l'organisme dans la formation et le développement de son système osseux.

Nous venons d'étudier quelques facteurs alimentaires susceptibles de modifier la composition et le développement du squelette ; ces facteurs ne sont pas seuls à provoquer ces résultats. Les vitamines ont à cet égard un rôle important. La vitamine D dont nous allons étudier l'action possède des propriétés particulières sur l'organisation et le développement du système osseux.

ACTION DE LA VITAMINE D.

En 1918, MELLANBY [45] expérimentant sur des Chiens constata, après avoir donné aux animaux divers régimes carencés en vitamines liposolubles, que des lésions osseuses s'installaient rapidement ; il émit l'hypothèse que les lésions de type rachitique apparaissant alors étaient dues à la carence en vitamines liposolubles. En 1921 PAPPENHEIMER démontra que cette hypothèse était trop imprécise car l'adjonction à un régime de vitamine A contenue dans le beurre n'empêchait pas l'évolution du rachitisme et que seule la vitamine D pouvait le combattre. LEHNARTZ [36] explique les observations de MELLANBY en disant que dans ses expériences sur les jeunes chiens nourris avec des aliments pauvres en vitamines liposolubles, les troubles de la formation de l'os étaient dus à un manque de dépôt calcaire à la périphérie des zones cartilagineuses de croissance de l'os, lesquelles semblent élargies, irrégulières et sans limites précises. Les os deviennent mous et flexibles et s'incurvent facilement sous le poids du corps. Ces faits observés par MELLANBY se retrouvent à certains égards chez divers animaux et chez l'Homme. Le rachitisme, affection fréquente chez l'enfant (une statistique faite il y a quelques années auprès d'enfants des écoles de Londres a montré que 80 p. 100 de ceux-ci avaient été rachitiques), peut en effet être rapproché des dystrophies expérimentales obtenues par carence en vitamine D ou par des déséquilibres salins. Toutefois on ne saurait trop souligner le fait que les causes du rachitisme infantile sont presque toujours multi-

ples, ce qui explique certains insuccès thérapeutiques de la vitamine D et de conditions alimentaires satisfaisantes. Par ailleurs, des dérèglements endogènes peuvent y participer. Aussi y a-t-il lieu de penser que l'expérimentation physiologique ne reproduit encore que très imparfaitement le rachitisme humain dont les modalités sont diverses (rachitismes eutrophique et dystrophique de MOURIQUAND) et les difficultés de sa thérapeutique (uviorésistance) dont V. EDEL [36] a récemment poursuivi l'étude.

Quels sont les facteurs qui paraissent intervenir ? On a d'abord constaté que le rachitisme n'apparaissait que très rarement lorsque les animaux ou les enfants étaient libres et exposés à la lumière solaire ; de plus on a vu que les quantités de calcium et de phosphore de la nourriture et surtout le rapport : Ca/P devaient avoir des valeurs fixes. En effet lorsque les quantités de calcium sont supérieures à celles des phosphates dans le régime pauvre en vitamines liposolubles, l'animal élimine avec le calcium en excès des phosphates de l'organisme. La teneur en phosphates normale du sérum, soit 4 à 6 mg. de P p. 100 cm³ atteint alors rapidement 3,0-2,5 mg. p. 100, tandis que la calcémie ne diminue que plus tard et moins. Mais si on rend au rapport : Ca/P sa valeur normale dans le régime, on peut guérir le rachitisme sans addition de vitamine D ; de même on peut guérir le rachitisme en administrant des vitamines D sans changer le rapport déséquilibré.

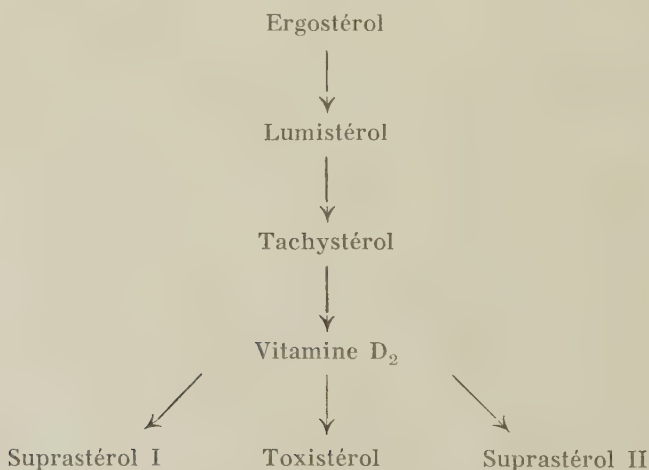
Cependant il faut noter que les guérisons par modification de la composition minérale du régime ne peuvent pas être appliqués strictement au rachitisme infantile, car celui-ci comporte des modifications de la charpente osseuse beaucoup plus importantes et plus difficilement réversibles.

A côté du rachitisme infantile il existe un rachitisme tardif provoqué par des aliments déséquilibrés (guerre de 1914-1918) chez des adolescents présentant une déminéralisation osseuse et une diminution du phosphore et du calcium dans le sérum avec fragilité des os. Des dystrophies de même ordre peuvent être obtenues expérimentalement chez le Rat en administrant un régime déséquilibré par un fort excès de magnésium ou de strontium (A. ROCHE [57 bis], MOURIQUAND, LEULIER et A. ROCHE [49 bis]).

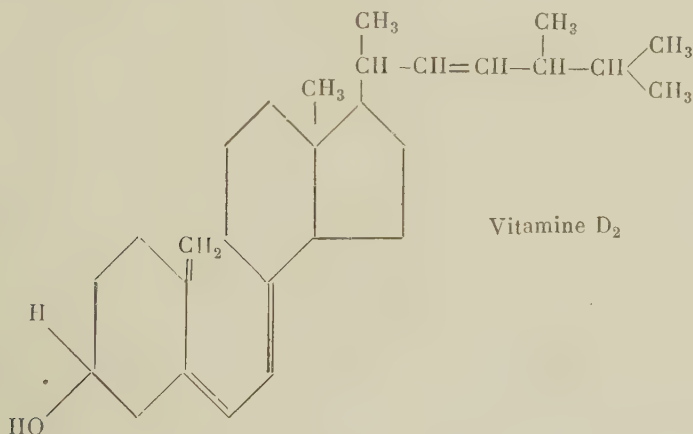
De nombreuses observations avaient montré que l'huile de foie de Morue possédait des propriétés particulières sur le rachitisme et sur la xérophtalmie. D'autre part on avait constaté

que cette huile soumise à un barbotage d'air à 100° gardait ses propriétés antirachitiques, mais perdait son action antixérophthalmique : c'est alors que l'on a dissocié dans leur action les deux vitamines A et D, la vitamine D étant spécifique du rachitisme. Deux observations importantes ont établi certaines propriétés de la vitamine D : HULDSCHINSKY [32] exposant des enfants rachitiques aux rayons ultra violets a observé leur guérison ; HESS et STEENBOCK projetant des rayons ultraviolets sur des produits végétaux et animaux leur a communiqué des propriétés antirachitiques. On a ainsi montré que la vitamine D se forme à partir de « provitamines » en les irradiant.

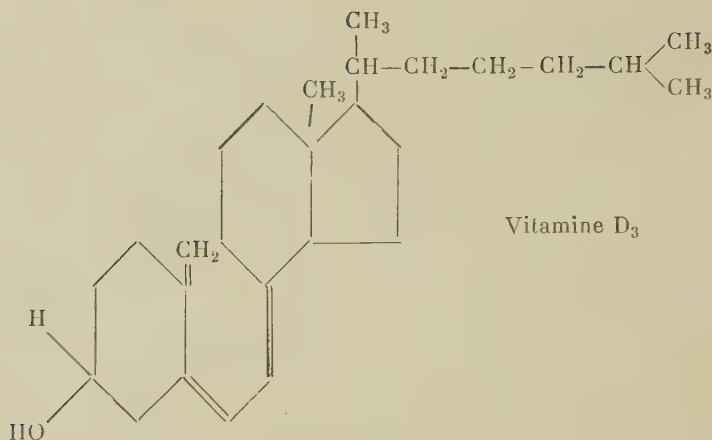
Le cholestérol brut cristallisé irradié possède des propriétés antirachitiques que n'a pas le cholestérol pur irradié. Des études sur le spectre d'absorption du cholestérol brut et des produits irradiés antirachitiques ont montré que la « partie activable » des cristaux bruts est un stérol ayant une bande d'absorption à 280 m μ . C'est dans l'ergostérol qu'on a trouvé le premier constituant répondant à ces conditions, ce corps étant une provitamine D. L'ergostérol se transformant en corps antirachitiques par l'irradiation aux rayons ultra-violets, passe par des intermédiaires. Du reste l'irradiation ne s'arrête pas à la vitamine D, mais donne des corps inactifs physiologiquement, des « produits de surirradiation ». LENHARTZ propose la filiation suivante :



Ces corps sont-ils formés dans cet ordre rigoureux ou apparaissent-ils parallèlement, tels le lumistérol et le tachystérol ? Les recherches ne permettent pas encore de donner une réponse. WINDAUS a établi la formule de la vitamine active, dite D₂, le nom de vitamine D₁ étant réservé à une combinaison moléculaire de lumistérol et de vitamine D₂ isolée antérieurement à celle-ci.

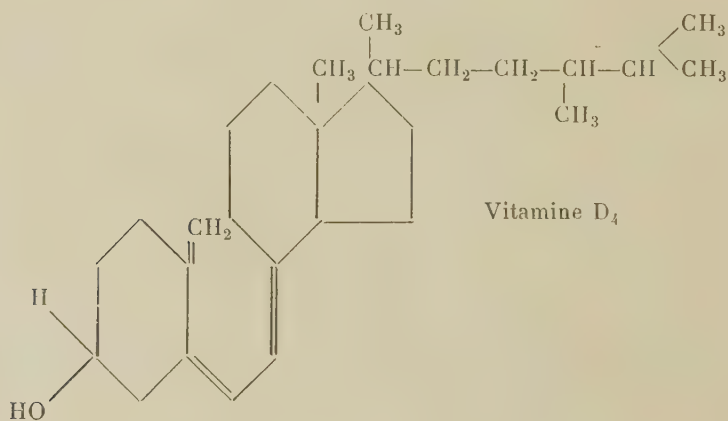


Le calciférol des auteurs anglais était souillé d'impuretés et d'autres produits irradiés ; le produit actif présent étant la vitamine D₂ de WINDAUS. On a alors comparé l'action de la vitamine D₂ et celle de l'huile de foie de Morue par leur action antirachitique sur des animaux : si on détermine sur des Rats la quantité d'huile de foie de Morue correspondant à une certaine quantité de vitamine D₂, on constate que pour le Poussin par exemple la quantité de vitamine D₂ ayant une action curative est supérieure à celle correspondant à l'unité d'huile de foie de Morue active ; donc la vitamine de l'huile est plus active chez le Poussin que le produit D₂. On a séparé de l'huile de foie de Thon une vitamine D₃ qui diffère de la D₂ par sa chaîne latérale. Sa formule est la suivante :



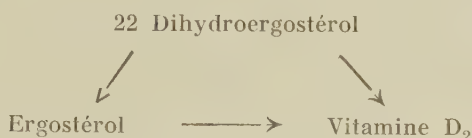
Il est probable que la vitamine D₃ est l'un des produits naturels présents dans les huiles de foie de nombreux poissons.

WINDAUS et TRAUTMANN ont retiré des produits de l'irradiation du 22-dihydroergostérol une vitamine D₄ moins active que D₂ et D₃ chez le Rat, mais d'activité intermédiaire à celles-ci chez le Poulet. Elle se distingue des autres vitamines D par la structure de sa chaîne latérale. Sa formule est :



Une remarquable mise au point sur la biochimie de ces corps, à laquelle nous renvoyons, a été récemment publiée par H. BROCKMANN (*Die Chemie der antirachitischen Vitamine*, in *Ergebn. d. Vitam. u. Hormonforsch.*, 1939, **2**, 55-104, 1 vol., 520 p. Akad. Verlagsges., M. B. A., Leipzig).

De même qu'on a pu obtenir des corps antirachitiques à partir de dérivés du cholestérol et de l'ergostérol, de même à partir de certains stérols végétaux on a pu avoir des corps tels que le sitostérol et le stigmastérol. Schématiquement avec LEHNARTZ nous pouvons écrire :



et de même



Mais alors que les produits du 22-dihydroergostérol et du 2-dihydrocholestérol ont une grande activité antirachitique, les 7-dihydrositostérol et 7-dihydrostigmastérol ont une activité si faible qu'on ne peut pas les considérer comme de provitamines.

La vitamine D₃ naturelle est le produit irradié du 7-dihydrocholestérol qui est la provitamine D naturelle d'origine animale, et les observations faites au sujet de l'apparition de l'ergostérol dans les stérols animaux riches en cholestérol reposent sur le fait que ce corps est accompagné de 7-dihydrocholestérol. L'activité antirachitique de ces corps est liée à la double liaison dans la chaîne latérale = CH₂.

Les dosages de vitamine sont basés sur leurs actions physiologiques et ont été effectués sur des Rats ; les méthodes chimiques en effet ne permettent pas encore de doser quantitativement les produits de transformation de l'ergostérol. Le dosage biochimique généralement utilisé en France est celui de L. RANDOIN [56] : on administre à des Rats blancs un régime déterminé, le régime RANDOIN et LECOQ, exclusivement privé de vitamine D à la dose de 15 grammes par jour ; ces Rats sont à l'obscurité et pesés tous les deux jours. Au bout de 7 à 9 jours, on observe à la radiographie des lésions rachitiques types ; on administre alors la substance antirachitique et au bout de 7 jours une nouvelle radiographie doit montrer une disparition totale ou presque totale des lésions. On a établi un échantillon international et des unités internationales dont la conférence de Londres en 1931 a donné la définition : « L'unité de vitamine D correspond à l'activité de un milligramme de la solution étalon d'ergostérol irra-

dié ». D'après les propriétés de l'ergostérol utilisé on a déterminé que l'unité de vitamine D correspond à 0,0001 milligramme, c'est-à-dire à 0,1 gramme de l'ergostérol utilisé pour la préparation de la solution standard. Telles sont les données les plus importantes que l'on possède actuellement sur les propriétés des vitamines D.

Quelle est l'action de la vitamine D et comment agit-elle dans l'ossification ? On a déterminé les différentes doses de vitamine D susceptibles d'avoir un effet préventif, curatif ou toxique sur l'organisme. Dans ces divers cas on a noté des modifications intéressant le squelette dans sa composition à l'aide d'expériences effectuées sur les animaux. De nombreux auteurs, MOURIQUAND et LEULIER [49], en France, MAC CANN et BARNETT [43], SHOHL et ses collaborateurs [76], GOLDBLATT [22], HESS, STEENBOCK et ses élèves [78] en Amérique, SCHULTZER [69] en Allemagne, BILLS, WIRECK et LONG [2] en Angleterre ont montré l'augmentation des dépôts minéraux au niveau des os d'animaux rachitiques sous l'influence de la vitamine D. Cette augmentation ayant paru s'effectuer de façon systématique dans les mêmes cas et les mêmes conditions, on a dressé des courbes montrant la relation qu'il existe entre les doses thérapeutiques de vitamine D et l'augmentation du pour cent des cendres de l'os. L'école anglaise s'est par ailleurs attachée à relier l'activité antirachitique des préparations à la mesure de son action curative sur le cartilage de conjugaison du Rat rachitique (« line test »).

NICOLAYSEN [52] a étudié l'influence de la vitamine D sur l'excrétion fécale du calcium et du phosphore endogènes chez le Rat et il conclut que l'excrétion du calcium par les fèces augmente dans l'avitaminose D, mais n'est pas influencée par l'ingestion de phosphore et que l'excrétion de phosphore endogène augmente par ingestion de calcium à un degré plus élevé chez les sujets carencés en vitamine D que chez les normaux. Dans le sang le taux de calcium et de phosphore augmente notablement surtout dans l'hypervitaminose. Au niveau des os on constate que le dépôt de $(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3$ est augmenté aussi, puis il y a décalcification et dépôt de calcaire dans divers organes occasionnant des lésions physiologiques pouvant être guéries, mais pouvant aussi amener la mort du sujet dans le cas de doses trop fortes (HEUBNER).

A. ROCHE et I. GARCIA [61] ont étudié l'action de la vita-

mine D chez des animaux en croissance ou adultes ; leurs essais ont porté sur les os longs (fémurs et tibias) et voici quelles sont leurs conclusions à ce sujet : « Les résultats que nous avons obtenus, en concordance avec ceux que nous avons observés chez les animaux adultes, nous montrent que la guérison provoquée par la vitamine D ne se différencie pas seulement de la guérison spontanée et même de celle provoquée par l'adjonction de phosphates, par sa rapidité, mais par le fait que dans ce cas, les sels phosphocalciques se précipitent au niveau de l'os, non pas à un taux identique au taux normal, mais supérieur à celui-ci. La vitamine D n'aurait qu'une action indirecte sur le tissu osseux fondamental. Elle peut favoriser la guérison des lésions rachitiques en déterminant la formation de dépôts minéraux dont nous connaissons l'action dans la régulation de l'équilibre acide-base ; elle agit ainsi sur le métabolisme salin, la concentration ionique des humeurs, et par là indirectement sur l'acidité de celles-ci ».

Après avoir exposé les principales propriétés et l'action de la vitamine D, il nous reste à montrer ce que sont les réserves minérales osseuses et le rôle que peut jouer la vitamine D par rapport à ces réserves ; nous verrons plus loin ce que nos expériences permettent de conclure à ce sujet.

V. — Les réserves minérales osseuses.

Le problème des réserves minérales osseuses peut se diviser en trois parties à savoir : l'os met-il en réserve des sels minéraux et comment se constituent ces réserves ; peut-il les perdre ou sont-elles mobilisables ?

Dans son étude sur l'ossification, voici ce que ROCHE [58] conclut au sujet des réserves : « Au cours des premières étapes où nous voyons évoluer parallèlement la croissance et la calcification, ce qui se constitue est une sorte de tissu fondamental fixe. Dans la dernière au contraire, ce sont des dépôts minéraux facilement mobilisables, véritables réserves phosphocalciques qui se constitueraient à côté de celui-ci. La juxtaposition de ce sel osseux fondamental microcristallin aux réserves minérales non organisées formerait la partie minérale de l'os adulte ». L'existence de réserves n'est plus à discuter, l'expérience l'a prouvée ; il a suffi d'étudier au cours de

la vie d'animaux divers et du Rat en particulier, les taux de phosphore, de calcium, d'azote et de considérer les variations des rapports : P/N et : Ca/P. Le rapport : P/N, véritable indice de calcification nous renseigne en effet sur les proportions dans lesquelles le tissu est imprégné en sels. A. ROCHE et I. GARCIA [61] ont montré que l'os s'enrichit en sels depuis la naissance jusqu'à l'âge adulte. Ces auteurs s'appuient sur le fait que ce processus loin d'être continu, évolue par étapes successives nettement définies au cours de la croissance ; cette évolution par stades était du reste à prévoir, elle est en rapport étroit avec celle de la calcification. Depuis les recherches de DONALSON sur le poids de chaque organe aux diverses étapes de la vie, on savait que la croissance n'est pas un phénomène continu ; les os ne constituent pas une exception à cet égard.

Le problème des réserves étant posé, voyons comment on a pu les mettre en évidence. Cette étude comporte en fait deux parties : l'étude du rapport : P/N au cours du développement normal du squelette aux différents âges de la vie, et l'étude de ce même rapport dans les mêmes conditions, mais chez des animaux recevant des régimes déséquilibrés. C'est encore à A. ROCHE et à I. GARCIA que nous devons ces expériences : ces auteurs ont étudié sur le Rat blanc les teneurs en phosphore et en azote des os longs, fémurs et tibias, et le rapport : P/N de ces mêmes os en fonction de l'âge des animaux et ils sont arrivés aux conclusions suivantes : « La constitution du squelette chez le Rat et probablement chez les vertébrés supérieurs se ferait suivant deux processus : il y aurait d'abord ossification proprement dite qui durerait chez le Rat depuis sa naissance jusqu'au moment où il atteint le poids de 100 grammes environ. C'est au cours de cette période que se formerait le tissu osseux fondamental. Puis de ce stade préadulte jusqu'au stade adulte, il y aurait formation de dépôts salins mobilisables, pouvant jouer le rôle de réserves que l'organisme utiliserait dans les cas de besoins : régulation de l'équilibre acide-base des humeurs, « mutations calciques », par exemple ».

Dans une deuxième série d'expériences, ces mêmes auteurs administrant à des Rats en croissance et à des Rats adultes un régime déséquilibré, tel que le régime Randoin et Lecoq, provoquèrent chez ces animaux des dystrophies osseuses du type rachitique. Quels sont les faits qui ont été observés et quelles en sont les causes ?

Chez les animaux en croissance, l'administration de ce régime dont le rapport : Ca/P est déséquilibré provoque des lésions osseuses visibles, telles que la déformation ogivale du palais des tibias. A l'examen radiographique ces lésions apparaissent nettement et sont caractéristiques. L'analyse des os montre que l'on a une modification des propriétés physico-chimiques du support protéique mise en évidence par une augmentation de la teneur en eau, le taux d'azote restant normal par rapport au poids frais, et une modification quantitative des dépôts minéraux au niveau de l'os, dépôts dont le taux rapporté tant au poids frais qu'au poids sec est inférieur à la normale. Ces faits permettent de conclure que chez les animaux en croissance, un régime déséquilibré détermine des modifications du squelette, en particulier du tissu osseux fondamental ; celui-ci peut se réorganiser selon le degré de déséquilibre du rapport : Ca/P ; mais, les réserves minérales ne pouvant se former, le squelette s'ossifie en fixant du phosphore.

Chez les animaux adultes, on constate par les mêmes expériences et dans les mêmes conditions que les os présentent aussi des lésions osseuses caractéristiques. Chimiquement on note une déminéralisation d'autant plus intense que ces lésions sont plus graves ; cependant ces deux phénomènes, déminéralisation et lésion, peuvent être indépendants comme l'ont montré MOURIQUAND et LEULIER [49] dans ce qu'ils ont appelé l'état de précarence où l'« on note bien avant l'apparition de signes chimiques des lésions, des pertes calciques et phosphorées importantes ». Enfin la déminéralisation que l'on observe est en rapport avec le poids initial de l'animal ; le phosphore participant à cette déminéralisation proviendrait des réserves salines accumulées avant l'expérience et non pas du tissu osseux fondamental.

Toutes ces expériences ont ensuite été effectuées avec administration de vitamine D et les résultats obtenus par I. GARCIA [18] sont les suivants : « Un régime déséquilibré en sels et complété par de la vitamine D provoque des modifications de la composition chimique des os variable selon le degré de son déséquilibre salin et suivant l'âge des animaux. Chez les animaux en croissance ayant des lésions rachitiques en pleine évolution, ces lésions guérissent. La vitamine D n'intervient que pour accélérer la guérison qui peut néanmoins s'effectuer sans elle ; elle facilite en outre la formation de dépôts salins.

Chez les animaux adultes on constate que malgré le déséquilibre salin du régime, les réserves minérales sont organisées ou conservées. La vitamine D n'a pas empêché l'apparition de lésions rachitiques, bien que favorisant la formation de dépôts minéraux ».

L'existence des réserves minérales osseuses est donc bien prouvée par ces expériences ; nous venons de voir que l'os peut constituer ses réserves minérales sous forme de dépôts salins, qu'il peut les perdre ou les mobiliser selon les circonstances. Mais le problème reste néanmoins incomplètement résolu car les auteurs ont étudié ces questions sur des animaux en croissance ou adultes seulement, alors que l'étude du squelette d'animaux très âgés, séniles, peut apporter des renseignements sur la mobilisation de ces réserves accumulées tout au long du stade préadulte et adulte.

De plus ces diverses études ont été réalisées sur les os longs seulement et des recherches sur les os plats et les dents sont indispensables pour concevoir avec exactitude et précision les mécanismes généraux de la formation et de l'évolution du squelette et compléter les renseignements acquis. Enfin la vitamine D a un rôle important dans la constitution des réserves minérales osseuses ; nous avons vu qu'elle favorise leur formation tout en agissant sur la guérison des lésions rachitiques. Cependant ici encore l'étude est incomplète et nous verrons plus loin quelle est l'action de la vitamine D sur les os plats, de même que son rôle vis-à-vis des déséquilibres du régime.

VI. — Objet du travail.

Les données générales sur l'ossification que nous venons d'exposer permettent de mettre en évidence certaines lacunes de nos connaissances sur cet important problème. Nous avons entrepris des recherches pour essayer de combler certaines d'entre elles.

Nous avons étudié dans la première partie de notre travail, l'ossification des os plats et des dents. A. ROCHE et I. GARCIA [61] ont établi que le développement des os longs présente chez le Rat trois étapes correspondant aux diverses périodes que les biométriciens distinguent dans la croissance.

Nous nous sommes demandés si les faits observés reflètent l'évolution générale du squelette ou s'ils sont particuliers aux os longs, dont le cartilage de conjugaison disparaît au moment où s'achève l'une des étapes de l'ossification mises en évidence par les travaux antérieurs de ces auteurs. Afin de nous en rendre compte nous avons étudié le développement d'os plats d'origine membraneuse (voûte du crâne) ou endochondrale (omoplate) et celle des dents au cours de la croissance du Rat.

Dans la seconde partie de notre travail nous basant sur les travaux de HESS, STEENBOCK, SHERMANN, PAPPENHEIMER, MOURIQUAND et LEULIER, lesquels admettent que l'action de la vitamine D sur la calcification des os est liée à la composition des aliments, en particulier à la valeur du rapport : Ca/P, nous avons soumis des Rats à des régimes présentant des teneurs en calcium et en phosphore diverses, administrés avec ou sans addition de vitamine D. Nous avons étudié le degré de calcification des os longs et des os plats dans ces conditions expérimentales variées et nous avons ainsi essayé de dissocier l'action de la vitamine D et celles des déséquilibres salins alimentaires au cours des deux grandes périodes de l'évolution du squelette correspondant d'une part à son développement et d'autre part à son enrichissement en dépôts salins mobilisables.

RECHERCHES PERSONNELLES.

PREMIÈRE PARTIE.

Variations de la Composition du Squelette au cours de la croissance et unité physiologique du système osseux

I. — Introduction et objet des recherches.

L'étude des variations de la composition du squelette au cours de la croissance a été entreprise par de nombreux auteurs, mais bien des questions touchant à la biochimie des os demeurent encore obscures.

Les physiologistes et les biométriciens considèrent avec TEISSIER [80] que la croissance des mammifères évolue en trois étapes, caractérisées chacune par une vitesse particulière du développement de l'organisme. Ce développement se produit-il de manière identique dans tous les organes ? A. ROCHE et I. GARCIA [61] ont étudié les variations de la composition des os longs chez le Rat blanc et ont montré que non seulement la composition du squelette subissait des variations au cours de la croissance, mais encore que la minéralisation de la matrice protéique s'opérait en trois étapes correspondant à celles déterminées par TEISSIER [80] dans la croissance pondérale des organes. Le fait que la composition minérale du squelette est susceptible de se modifier n'est pas nouveau : on sait depuis les études d'HUGOUNENCQ en France, de BROOKE, SMITH et SMITH [5] en Amérique, celles de MAREK, WELLMANN et URBANYI [41] en Hongrie, que l'âge du sujet et le régime, en particulier, sont des facteurs modifiant la composition des os, car « le squelette d'un animal adulte ne doit pas être considéré uniquement comme une charpente inerte et définitive-

ment constituée ». On était moins bien fixé sur le mécanisme de ces variations et sur les constituants participant à celles-ci. De nombreuses hypothèses ont été émises et après les travaux de MUNK et TIGERSTEDT montrant le rôle du squelette dans la régulation de l'équilibre acide-base, il restait à savoir si cette participation du squelette au métabolisme avait lieu par mobilisation de tissu osseux fondamental ou des dépôts salins venant s'ajouter à l'os proprement dit et constituant une véritable réserve minérale. C'est ce qu'A. ROCHE et I. GARCIA ont étudié au cours de leurs recherches. Se basant sur le fait que l'os est formé d'un support protéique sur lequel se déposent des sels et qu'il existe des relations physiologiques et morphologiques entre ces deux catégories de constituants, ces auteurs ont entrepris l'étude chimique du rapport dans lequel la « mantisse protéique » et les « dépôts salins » existent dans l'os. L'azote étant considéré comme le constituant le plus caractéristique de la mantisse protéique de l'os, et le phosphore comme l'un des constituants essentiels de la partie minérale, le dosage de ces deux éléments et le rapport : P/N ont permis d'établir un « indice chimique de l'ossification du squelette » caractéristique des différentes étapes de la croissance. C'est ainsi qu'A. ROCHE et I. GARCIA [61] ont montré qu'au niveau des os longs, fémur et tibia, il existe ces étapes de croissance dont TEISSIER [80] a dégagé les lois et les limites ; et tout comme celle des organes, « la croissance des os longs a lieu par phases successives, présentant dans toutes les parties d'un même organisme un remarquable synchronisme, déterminé sans doute par des actions hormonales dont la plus importante est en relation avec la puberté » (J. ROCHE [58]).

La minéralisation de la matrice protéique du fémur et du tibia chez le Rat blanc ne s'opère donc pas au cours de la vie d'une manière uniforme, mais en trois temps correspondant aux étapes de la croissance corporelle. L'on peut penser que tous les organes osseux subissent la même évolution, un « os fondamental » s'organisant primitivement dans les deux premiers temps nettement délimités par A. ROCHE et I. GARCIA [61] et des réserves minérales se formant par la suite. Toutefois, les résultats obtenus sur les os longs ne sauraient nous renseigner avec certitude sur les phénomènes dont l'ensemble des pièces squelettiques peut être le siège. Il nous a paru

qu'il y aurait intérêt à étendre ces recherches à d'autres organes osseux, en particulier aux os membraneux et aux dents pour tenter de généraliser les conclusions du travail que nous venons de résumer.

Les os longs sont des pièces squelettiques dont l'évolution et l'organisation sont régies par un ensemble de mécanismes très complexes, que les histologistes désignent sous les noms d'ossification endochondrale (ébauche cartilagineuse primitive, cartilage de conjugaison), membraneuse (périoste) et haversienne (remaniements secondaires). La première de celles-ci, en partie localisée dans le cartilage de conjugaison séparant les épiphyses de la diaphyse, disparaît à la fin de la seconde période de croissance. Aussi n'est-il pas impossible que les modifications de composition présentées alors par les fémurs et les tibias tiennent à la résorption de la zone endochondrale différenciée, plutôt qu'à des phénomènes liés à l'évolution du système osseux.

L'étude de la minéralisation des os plats au cours du développement des animaux (Rats) nous a paru susceptible de permettre des conclusions générales sur les étapes de la formation et de la vie du squelette. Nous l'avons poursuivie sur la voute crânienne (massif pariéto-occipital), et sur l'omoplate. La première est constituée par des os d'origine conjonctive, os membraneux typiques formés par métaplasie directe du tissu conjonctif en tissu osseux sans l'intervention du mécanisme endochondral. La seconde est au contraire d'origine cartilagineuse. Elle est assez voisine des os longs, à ceci près qu'elle ne contient pas de formation endochondrale différenciée — comme le cartilage de conjugaison — et que l'ossification membraneuse (périoste) y est beaucoup plus intense. Les deux pièces squelettiques choisies sont donc des objets d'étude particulièrement favorables à la comparaison que nous nous proposons d'entreprendre. Si, malgré leurs différences de structure, l'une et l'autre sont le siège des mêmes modifications, il y aura tout lieu de considérer que celles-ci affectent l'ensemble du système osseux.

Nous avons fait, en outre, porter nos expériences sur les incisives du Rat. Le développement de ces dents étant interrompu pendant toute la vie chez les rongeurs, il y avait intérêt à rechercher si leur composition subit, malgré cela, les modifications que nous cherchions à mettre en évidence dans l'ensemble du système osseux.

Enfin nous avons cru devoir compléter le travail poursuivi antérieurement sur les os longs par l'étude du fémur et du tibia d'animaux adultes de divers âges afin de préciser les modalités de la déminéralisation sénile du squelette.

Notre but est donc d'apporter une contribution à l'étude déjà entreprise par A. ROCHE et I. GARCIA en envisageant d'une part le processus de la minéralisation des os longs dans la période de sénilité du squelette, et d'autre part en étudiant la minéralisation des os plats et des incisives, afin d'essayer de généraliser les résultats déjà obtenus à l'ensemble du squelette et, par là même, de mettre en évidence l'unité physiologique du système osseux.

II. — Marche des expériences et techniques.

Poursuivant les travaux d'A. ROCHE et I. GARCIA [61] nous avons utilisé leurs méthodes. Les Rats sur lesquels nos recherches ont été poursuivies proviennent du même élevage où ils ont été nourris avec un mélange de blé, de pain, de lait, de légumes verts et de levure fraîche. La courbe de croissance de Rats de divers élevages, empruntée à un travail d'I. GARCIA [18] a été reproduite ci-dessous.

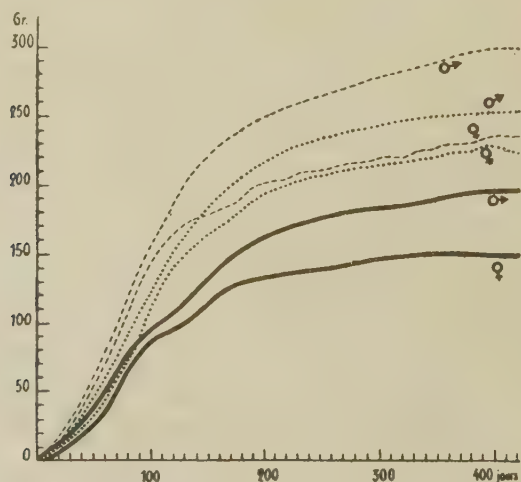


FIGURE 1. — Courbes de croissance du Rat blanc.

Données établies par KING : — — — — —

Données établies par FERRY :

Données établies par GARCIA sur les animaux de notre élevage : —————

Sur cette même figure ont été tracées les courbes de croissance de Rats normaux d'après les documents établis par KING et par FERRY, mais les animaux utilisés par ces deux derniers auteurs étaient d'une race atteignant une taille plus grande que ceux de notre élevage ; l'allure générale des courbes est sensiblement la même et nous permet d'avoir une idée du développement de l'animal au cours de sa vie.

Nous avons donc utilisé des Rats blancs de poids différents s'échelonnant autant que possible régulièrement depuis la naissance jusqu'à 210 grammes, ces derniers étant âgés d'environ 400 jours. Ces animaux ont été tués au gaz d'éclairage et les pièces squelettiques suivantes ont été prélevées : les fémurs droit et gauche, les tibias droit et gauche, les omoplates, la voûte crânienne et les quatre incisives. Les os ont été placés dans des pèses-filtres tarés et pesés frais, puis mis à l'étuve à 105° jusqu'à poids constant : cette opération demande environ 48 heures. Le poids sec ainsi obtenu nous permet de connaître l'humidité de chacune de ces pièces osseuses.

Comme A. ROCHE et I. GARCIA [61], nous avons étudié le degré de calcification des os par l'établissement du rapport : phosphore p. 100/azote p. 100 (P/N). Si l'on considère en effet le premier de ces éléments comme représentatif des sels de l'os et le second comme caractéristique de la matrice protéique de celui-ci, le rapport : P/N apparaît comme un véritable indice chimique de l'ossification des pièces squelettiques.

Les os ont été minéralisés ensuite en présence d'acide sulfurique concentré et d'une pincée de mélange catalyseur de PREGL au sulfate de cuivre ou, le plus souvent, de catalyseur au sélénite de mercure de DUMAZERT et MARCELET [13] qui nous a donné d'excellents résultats en ramenant le temps de minéralisation à 30 minutes. Le produit de minéralisation est ensuite porté à un volume donné ; l'azote et le phosphore étant les deux seuls éléments représentatifs comme nous l'avons vu, sont dosés sur des parties aliquotes. L'azote est dosé par distillation suivant la technique propre au micro-kjeldahl dans l'appareil de PARNAS et WAGNER ; le phosphore est dosé par la méthode titrimétrique de NEUMANN au phosphomolybdate d'ammonium.

Afin d'obtenir des résultats moyens nous avons opéré nos dosages sur les os des membres droits et gauches séparément et nous avons constaté que pour un même animal des diffé-

rences souvent appréciables pouvaient exister ; nous avons ensuite fait la moyenne entre les résultats des deux mêmes pièces osseuses. Les omoplates ont été réunies avant la minéralisation car les différences sont peu sensibles ; de même pour les os de la voûte crânienne et les quatre incisives. Les méthodes de minéralisation et de dosages ont été les mêmes pour ces pièces squelettiques que pour les os longs.

Le taux d'azote total contenu dans la pièce osseuse entière et le taux de phosphore total contenu dans cette même pièce permettent donc d'établir la valeur du rapport : P/N et d'étudier les variations de ce rapport en fonction du poids des animaux.

III. — Résultats expérimentaux.

Tous les résultats que nous avons obtenus à ce sujet ont été rassemblés dans les cinq tableaux qui suivent. Ceux relatifs aux résultats sur les fémurs et les tibias sont moins fournis en données personnelles, car il ne s'agit là comme nous l'avons indiqué que d'un complément à un travail du même ordre effectué par A. ROCHE et I. GARCIA [61] ; aussi avons nous emprunté à ces auteurs quelques uns de leurs résultats afin de montrer la continuité entre leurs conclusions et celles que nous nous sommes efforcés de tirer de ce travail.

Nous avons fait une moyenne des résultats obtenus sur les os droit et gauche de nos animaux. Ils sont dans l'ensemble assez concordants pour des animaux de même poids. Néanmoins certains d'entre eux sont aberrants ; nous les avons néanmoins notés. Ils s'expliquent du fait que les animaux sur lesquels nous avons expérimenté, constituent un matériel nécessairement hétérogène pouvant être sujet à des variations imprévisibles. Ces cas sont du reste rares comme le montrent ces courbes moyennes ; nous avons cependant tenu à signaler ces écarts.

Ces tableaux nous ont permis de tracer des courbes sur lesquelles nous allons essayer, dans le chapitre suivant, de discuter les résultats.

TABLEAU III.

Teneurs en azote (N) et en phosphore (P) et rapport : P/N des os de la voute crânienne de Rats normaux en croissance ou adultes.

Animaux N°	Poids (g.)	Azote p. 100 du		Phosphore p. 100 du		P/N
		poids frais	poids sec	poids frais	poids sec	
Portée 25	2	1,29	5,76	1,64	7,32	1,27
N 29	7	1,47	5,63	2,54	9,72	1,72
N 27	20	2,65	5,00	3,20	6,27	1,25
N 26	27	2,57	4,09	4,44	7,05	1,77
N 28	35	3,66	5,90	6,68	10,82	1,83
N 17	58	3,60	5,63	5,10	7,97	1,41
N 4	74	3,32	5,65	5,42	9,45	1,63
N 8	77	4,66	6,36	8,89	12,12	1,90
N 3	77	3,63	6,12	5,72	9,61	1,57
N 11	87	3,79	5,35	8,29	11,76	2,19
N 10	110	4,78	6,73	8,86	12,47	1,85
N 7	120	4,46	6,29	8,78	12,38	1,96
N 22	145	3,12	4,72	8,31	11,81	2,65
N 16	117	3,39	5,00	8,62	12,85	2,55
N 20	148	3,39	4,85	8,42	12,05	2,48
N 21	150	3,44	4,56	8,85	11,75	2,55
N 23	155	3,09	4,10	8,80	11,69	2,84
N 5	160	1,98	4,35	4,18	11,58	2,79
N 24	175	3,22	4,48	7,82	10,87	2,39
N 6	180	2,80	5,01	5,60	9,82	2,01
N 19	186	3,44	4,97	6,21	8,95	1,80
N 2	196	3,65	7,70	5,22	11,08	1,43
N 14	200	3,85	4,97	6,64	8,56	1,72
N 18	210	3,42	4,66	7,88	10,78	2,30
N 1	210	3,50	5,95	5,60	9,99	1,69

TABLEAU IV.

Teneurs en azote (N) et en phosphore (P) et rapport : P/N des omoplastes de Rats normaux en croissance ou adultes.

Animanx N°	Poids (g.)	Azote p. 100 du		Phosphore p. 100 du		P/N
		poids frais	poids sec	poids frais	poids sec	
N 29	7	1,87	6,80	3,17	11,54	1,69
N 27	20	3,64	7,60	5,82	12,00	1,60
N 26	27	3,57	7,80	4,43	9,70	1,24
N 28	35	3,37	6,24	4,63	9,00	1,38
N 17	58	3,65	9,18	4,01	10,09	1,10
N 4	74	2,60	6,05	2,95	7,20	1,11
N 8	77	4,26	7,10	6,70	11,29	1,61
N 3	77	3,48	8,40	5,90	10,00	1,20
N 11	87	3,70	6,93	5,16	9,66	1,39
N 10	110	3,65	7,83	5,79	10,72	1,52
N 7	120	4,15	7,66	6,53	11,28	1,47
N 15	137	4,44	5,11	9,65	12,83	2,17
N 22	146	3,26	5,55	6,45	11,01	1,98
N 16	147	3,73	6,08	5,22	11,60	1,88
N 20	148	2,41	4,10	6,31	10,78	2,63
N 21	150	3,68	6,18	7,80	13,01	2,12
N 23	155	3,60	5,61	6,90	10,76	1,91
N 5	160	2,67	5,36	5,45	11,50	2,02
N 24	175	3,47	5,16	7,68	11,41	2,20
N 6	180	3,72	5,28	7,25	10,15	1,94
N 19	185	3,68	6,00	5,92	10,08	1,50
N 2	195	4,60	7,78	6,40	12,10	1,39
N 14	200	3,72	5,95	6,91	11,06	1,85
N 18	210	3,48	6,16	7,34	10,10	2,11
N 1	210	3,35	6,32	5,40	9,99	1,60

TABLEAU V.

Teneurs en azote (N) et en phosphore (P) et rapport : P/N des incisives de Rats normaux en croissance ou adultes.

Animaux N°	Poids (g.)	Azote p. 100 du		Phosphore p. 100 du		P/N
		poids frais	poids sec	poids frais	poids sec	
N 27	20	2,28	6,35	5,30	15,05	3,78
N 26	27	2,61	4,53	5,51	9,60	3,00
N 28	35	2,28	3,93	7,43	12,09	3,28
N 12	52	2,53	3,64	6,68	9,60	4,63
N 17	58	2,58	4,04	10,30	15,95	3,96
N 8	77	2,65	3,75	11,25	15,87	4,23
N 11	87	2,14	3,00	11,19	15,66	4,24
N 13	102	2,54	3,83	10,86	16,38	4,27
N 10	110	2,47	3,93	10,31	16,38	4,68
N 9	122	3,03	3,97	14,15	18,53	4,66
N 15	137	2,30	2,88	12,66	15,86	5,52
N 22	145	2,08	2,78	9,52	12,78	4,56
N 16	147	2,24	2,88	10,30	13,12	4,58
N 20	148	2,12	2,78	9,15	12,10	4,34
N 21	150	2,16	3,07	10,55	15,09	4,83
N 23	155	2,28	2,92	12,80	16,39	4,80
N 24	175	2,39	3,12	9,50	12,42	3,98
N 19	185	2,17	2,94	9,42	12,90	4,36
N 14	200	2,51	3,19	8,20	10,41	3,26
N 18	210	2,31	3,07	8,26	11,00	3,58

TABLEAU VI.

Teneurs en azote (N) et en phosphore (P) et rapport : P/N des fémurs de Rats normaux, en fin de croissance ou adultes.

Animaux N°	Poids (g.)	Azote p. 100 du		Phosphore p. 100 du		P/N
		poids frais	poids sec	poids frais	poids sec	
51 N (*)	135	3,16	5,77	6,17	11,28	1,95
R M	136	5,96	5,96		12,99	2,36
22 N (*)	143	3,19	5,32	6,63	11,54	2,07
R M	145		4,74		16,15	
R M	150		5,51		12,53	2,33
60 N (*)	152	2,99	5,01	7,15	12,01	2,40
R M	155		5,44		13,28	2,58
N 5	160	3,22	4,75	7,00	10,27	2,47
R M	160		4,67		12,75	2,92
59 N (*)	172	2,77	4,34	6,36	9,91	2,30
R M	175		4,99		13,48	2,92
N 6	180	3,59	5,52	8,53	13,03	2,29
R M	185		4,68		13,51	3,05
N 2	195	3,62	5,94	7,86	13,24	2,82
R M	196		4,80		11,90	2,49
65 N (*)	208	2,50	4,70	7,31	12,02	2,46
N 1	210	3,20	5,04	7,77	11,95	2,32
9 K (*)	222	3,21	5,15	6,82	11,30	2,17
R M	235		4,37		9,80	2,35

(*) Données empruntées à A. ROCHE et I. GARCIA [61].

TABLEAU VII.

Teneurs en azote (N) et en phosphore (P) et rapport : P/N des tibias de Rats normaux en fin de croissance ou adultes.

Animaux N°	Poids (g.)	Azote p. 100 du		Phosphore p. 100 du		P/N
		poids frais	poids sec	poids frais	poids sec	
51 N (*)	135	3,25	5,32	6,91	11,53	2,13
22 N (*)	143	3,21	5,01	6,86	10,70	2,12
60 N (*)	152	2,95	4,47	8,10	12,35	2,70
N 5	160	3,30	4,75	7,65	11,20	2,34
59 N (*)	162	2,90	4,25	8,09	11,68	2,75
N 6	180	3,25	4,92	7,57	11,32	2,49
N 2	195	3,37	5,13	6,91	10,59	2,04
65 N (*)	208	2,95	4,55	7,87	12,20	2,67
N 1	210	3,35	4,68	8,35	11,10	2,36
9 N (*)	222	3,20	4,96	7,20	11,45	2,31

(*) Données empruntées à A. ROCHE et I. GARCIA [61].

IV. -- Examen d'ensemble et discussion des résultats expérimentaux.

L'on ne saurait discuter la signification biochimique et physiologique des données expérimentales acquises sans en avoir dégagé auparavant les faits qu'elles traduisent. Un tel examen d'ensemble de nos résultats peut être poursuivi de manière plus directe sur les figures ci-dessous que sur les tableaux ayant servi à l'établissement des courbes qui y sont reproduites.

Toutes les courbes traduisant les résultats numériques des différents tableaux illustrent les variations du rapport :

phosphore/azote (P/N) en fonction du poids des animaux. La figure IV comporte les variations du rapport : P/N des fémurs et des tibias ; cette courbe a été établie à partir de valeurs expérimentales provenant les unes d'un travail antérieur, les autres des tableaux VI et VII ; ceci nous a permis de mettre en relief la continuité de la courbe dans le stade de la sénilité des animaux et qui n'avait pas été précisé par A. ROCHE et I. GARCIA [61] à qui ont été empruntés les résultats.

La figure II traduit graphiquement les données contenues dans les tableaux III et IV. Nous avons pu réunir sur une même figure les courbes relatives aux omoplates et à la voute crânienne du fait que les valeurs du rapport : P/N sont sensiblement voisines et d'un même ordre de grandeur. Les incisives présentant par contre, un rapport : P/N plus élevé, les données établies sur elles ont été consignées sur une figure à part. Enfin toutes les courbes sont réunies dans une cinquième figure afin d'illustrer l'ensemble des résultats de nos recherches.

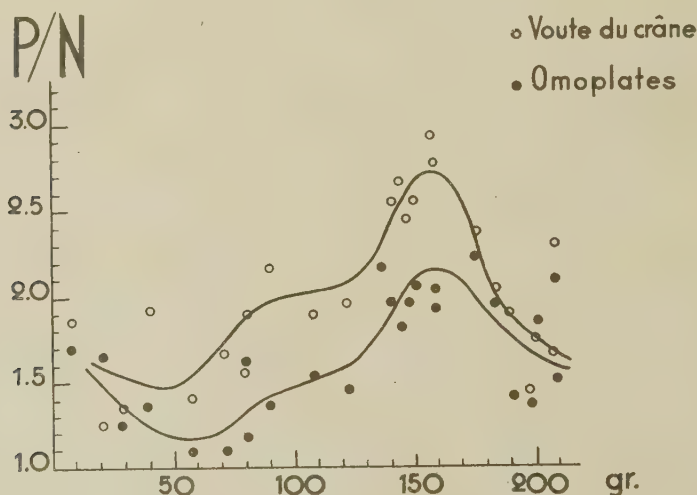


FIGURE 2. — Variations du rapport : phosphore/azote (P/N, de divers os plats, membraneux (voute du crâne) ou non (omoplate), en fonction du poids des animaux (Rats).

Abscisses = poids des animaux (grammes), Ordonnées = rapport : P/N.

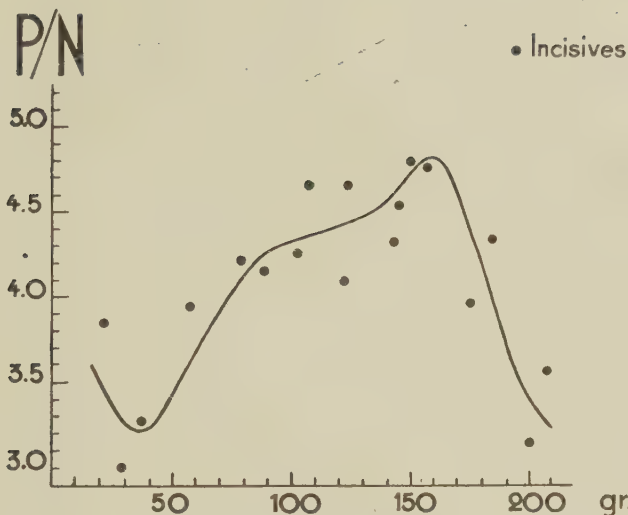


FIGURE 3. — Variations du rapport : phosphore/azote (P/N), des incisives en fonction du poids des animaux (Rats).

Abscisses = poids des animaux (grammes), Ordonnées = rapport : P/N.

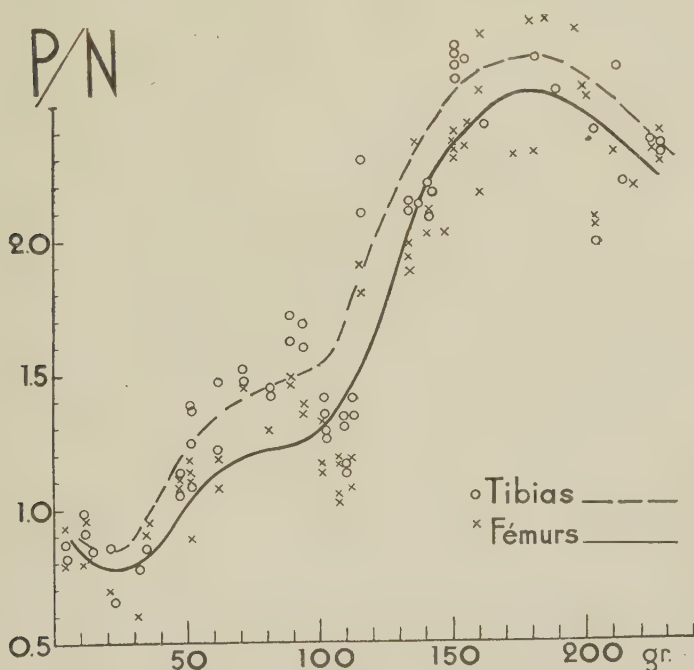


FIGURE 4. — Variations du rapport : phosphore/azote (P/N), du fémur et du tibia en fonction du poids des animaux (Rats).

Abscisses = poids des animaux (grammes), Ordonnées = rapport : P/N.

A. — LES VARIATIONS DU RAPPORT : P/N DES DIVERS OS ET DES DENTS PENDANT LA CROISSANCE ET A L'ÉTAT ADULTE. SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE DE CES VARIATIONS.

L'examen sommaire de ces figures objective sans ambiguïté le fait que la composition des diverses pièces squelettiques présente au cours de la vie un ensemble de modifications synchrones et de même nature. Ces courbes vont nous permettre d'étudier le problème de l'ossification par les faits acquis au cours de nos expériences et de les discuter, d'une part en tant que se rapportant à l'évolution générale de la minéralisation des os au cours de la vie, et d'autre part en tant que traduisant des particularités propres aux diverses pièces squelettiques.

1. *Evolution générale de la minéralisation des divers organes osseux au cours de la vie.* — Deux faits généraux se dégagent de l'examen de ces figures : d'une part toutes les courbes représentées sur celles-ci ont la même allure générale et d'autre part les accidents que l'on décèle sur les unes et sur les autres sont synchrones. Il est donc hors de doute que la minéralisation de l'ensemble du squelette s'opère par la succession des étapes mises en évidence par A. ROCHE et I. GARCIA dans leurs recherches sur les os longs.

Ces auteurs ont en effet montré que la valeur du rapport : P/N des os longs subit un léger abaissement au début de la croissance c'est-à-dire jusqu'à 25 ou 30 grammes. Il augmente ensuite régulièrement dans une deuxième période reprend la même valeur qu'à la naissance vers 45 grammes, puis augmente toujours jusqu'à un palier représentant le stade préadulte. Enfin dans une troisième période il augmente encore et paraît se stabiliser. En comparant le tracé de nos courbes établies sur les os plats et les incisives avec celles des auteurs cités plus haut relatives aux os longs, nous constatons une identité parfaite dans l'allure générale des tracés. En effet nous observons au début de la vie des animaux un léger abaissement de la valeur du rapport : P/N correspondant à une première période où la matrice protéique des organes se développe plus rapidement qu'elle ne se minéralise. Pendant cette période et surtout pendant les premiers jours après la nais-

sance, les remaniements osseux sont très intenses et le minimum que l'on constate est sans doute l'expression d'une prédominance des phénomènes d'ostéolyse sur les phénomènes d'ostéogénèse. C'est aussi dans cette période que les animaux sont susceptibles de contracter le rachitisme par avitaminose D pure. L'abaissement de la valeur du rapport : P/N se retrouve sur toutes les courbes avec une régularité qui ne peut faire douter de l'homogénéité des processus dont toutes les pièces squelettiques sont le siège au début de la vie de l'animal.

Puis la valeur du rapport : P/N pour les os plats suit la même marche ascendante que pour les os longs ; à partir de 30 à 40 grammes la calcification présente une intensité de plus en plus grande jusqu'à 120 grammes environ où on a un léger palier marquant un temps d'arrêt et correspondant au stade préadulte qu'avaient déjà observé A. ROCHE et I. GARCIA [61]. Tout au long de cette deuxième période le squelette continue à se développer ; l'ossification endochondrale se poursuit, mais l'ossification haversienne permet aux os d'acquérir une solidité plus grande. Le rapport : P/N continue à s'élever lentement et de façon régulière. La croissance de la matrice protéique des os est presque terminée ; l'étape du développement du Rat correspondant à l'adolescence humaine a pris fin.

Enfin dans une période ultérieure, la valeur du rapport : P/N augmente rapidement, les animaux atteignent l'état adulte, leur taille et leur poids augmentent moins qu'auparavant mais les os présentent alors une surcharge en sels considérable, ce que traduit cette augmentation du rapport : P/N. Les phosphates s'accumulent dans l'os. Le problème n'avait pas été poussé plus loin, et on était en droit de se demander si ces sels accumulés pouvaient alors jouer le rôle de réserves minérales. Les conclusions d'A. ROCHE et I. GARCIA [61] admettant qu'il se constitue surtout un « os fondamental » dans les deux premières étapes de la calcification, tandis que la plus grande partie des sels fixés par les animaux en fin de croissance forme des réserves, ne nous précisent pas d'une façon nette si celles-ci sont facilement mobilisables ces réserves jouent réellement le rôle de réserves minérales.

Sur des animaux dont le poids dépasse 150 grammes, l'étude des os longs, des os plats et des incisives nous a donné des courbes du rapport : P/N ayant la même allure entre elles. La courbe après être passée par le maximum à 150 grammes

s'abaisse progressivement et tend vers les valeurs présentées par les mêmes pièces squelettiques à la fin de la deuxième période de croissance.

Les modifications de la valeur du rapport : P/N chez les animaux adultes d'un poids dépassant 150 grammes renforcent d'ailleurs singulièrement l'hypothèse antérieurement émise sur l'existence de réserves minérales osseuses. L'ostéoporose sénile est un fait bien connu des physiologistes et des médecins. Mais la régularité avec laquelle la « raréfaction osseuse » s'opère au cours de la vie des animaux adultes, chez le Rat tout au moins, ne nous paraît pas avoir été démontrée jusqu'ici de manière aussi claire que par les données acquises au cours de nos recherches. Dans tous les cas étudiés, lorsque les animaux adultes vieillissent à partir de 160 à 170 grammes de poids chez les Rats de notre élevage, leurs os s'appauvrissent progressivement en phosphates et le rapport : P/N s'abaisse. Aussi y a-t-il lieu de penser qu'une partie des sels fixés après la seconde période de croissance sont mobilisables facilement et sans compromettre gravement la solidité du squelette ; aussi jouent-ils le rôle de réserve minérale (1).

2. *Comportement particulier des diverses pièces squelettiques.* — Nous venons de voir d'une façon générale l'évolution des diverses pièces squelettiques dans leur ensemble au cours de la vie. Les os longs et les os plats, malgré l'allure identique des courbes de variations de la valeur du rapport : P/N, présentent des modalités particulières. Celles-ci apparaissent nettement sur les courbes rassemblées dans la figure 5 et dans le tableau VIII, constitués l'un et l'autre à partir des données exposées ci-dessus.

L'examen de la figure 5 demande quelques explications ; c'est un résumé de cette partie de notre travail et l'interprétation logique des faits qui en découlent est simple.

Les os longs (fémur et tibia) se minéralisent avec une intensité exceptionnelle, surtout en fin de croissance ; la valeur du rapport : P/N de ces pièces osseuses augmente en effet du simple au double (1,5 à 3,0) pendant que le poids des animaux

(1) La forme sous laquelle est exposée cette conception est volontairement schématique. Il va sans dire que les remaniements haversiens ayant lieu en fin de croissance et chez l'adulte concourent alors à la constitution d'un « os fondamental » et qu'une partie seulement des sels retenus dans cette période de la vie peut jouer le rôle de réserves et être mobilisée dans dommage pour l'os.

TABLEAU VIII.

Valeurs moyennes du rapport : P/N de diverses pièces osseuses aux époques successives de la vie du Rat.

Pièce osseuse	P/N chez un animal pesant de				
	5 à 10 g.	35 à 40 g.	100 à 120 g.	150 à 170 g.	200 à 240 g.
Fémur.....	0,8	0,7	1,2	3,1	2,4
Tibia.....	0,9	0,8	1,5	3,0	2,3
Voûte crânienne	1,6	1,4	1,9	2,6	1,6
Omoïate.....	1,6	1,2	1,6	2,1	1,4
Incisive	3,8	3,2	4,3	4,9	3,3

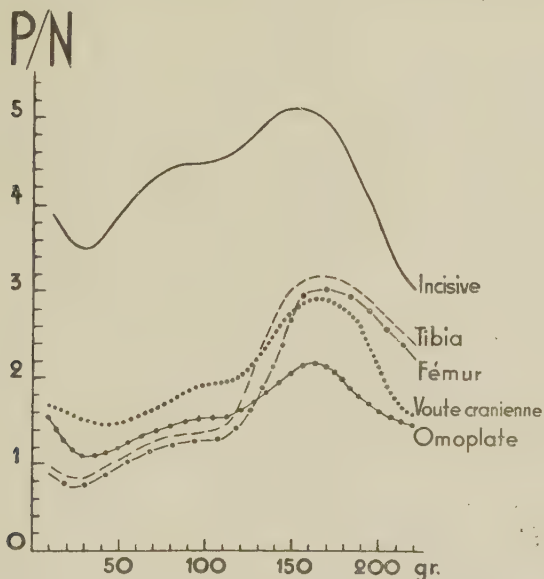


FIGURE 5. — Variations moyennes du rapport : Phosphore/azote (P/N) du fémur, du tibia, de la voûte crânienne, de l'omoïate et des incisives en fonction du poids des animaux (Rat).

Abscisses = poids des animaux (grammes), Ordonnées = rapport : P/N.

· passe de 120 à 160 grammes. Cette surcharge en sels correspond principalement à la formation d'un os haversien, dense et solide, au niveau des dialyses, cependant que l'animal continue à grandir encore légèrement. Le cartilage de conjugaison disparaît et cesse de ce fait de participer à la formation de l'os. C'est là par ailleurs l'époque où le mécanisme de l'ossification endochondrale fait place au processus haversien. Toutefois une partie du matériel phospho calcique fixé demeure mobilisable et peut servir de réserve minérale comme en témoigne l'abaissement du rapport : P/N au delà de 160 grammes de poids corporel.

L'évolution des os plats présente le même cycle que celle du fémur et du tibia, mais d'importantes différences quantitatives séparent la minéralisation des uns et des autres aux diverses époques de la vie. Chez les animaux jeunes, les os plats sont plus calcifiés que les os longs, la valeur du rapport : P/N chez les premiers est presque le double de celle des secondes ; par contre ils fixent relativement moins de sels au cours de la croissance, car ce même rapport : P/N demeure notablement plus bas chez eux que dans les fémurs ou les tibias surtout lorsque les animaux atteignent 120 grammes environ. En revanche les os plats se déminéralisent beaucoup plus que les os longs chez les animaux adultes dont le poids dépasse 160 à 170 grammes. Aussi faut-il considérer que leurs réserves phosphocalciques peuvent être mobilisées avec une facilité exceptionnelle ; la valeur du rapport : P/N après avoir atteint un maximum très voisin de celle des os longs tombe chez les animaux âgés à 1,5 en moyenne, alors que les os longs ont encore un rapport P/N égal à 2,5 à la même époque. Ces faits ont du reste trouvé une application dans les recherches sur les dystrophies osseuses auxquelles nous nous sommes consacrés et qui seront exposées dans la deuxième partie de ce travail.

Enfin il n'est pas sans intérêt de remarquer que les incisives du Rat, bien que continuant à se développer chez l'adulte, présentent alors, comme l'ensemble du squelette, un appauvrissement en sels particulièrement important. En effet la valeur du rapport : P/N des dents présente des variations dont l'ensemble est synchrone des courbes des autres pièces osseuses ; cependant cette valeur s'abaisse dans les incisives des animaux adultes âgés au dessous de celle qu'elle présente pendant la croissance.

B. — MODIFICATION DE LA COMPOSITION DES OS AU COURS DE LA VIE ET BIOCHIMIE GÉNÉRALE DU SYSTÈME OSSEUX.

Les faits qui viennent d'être résumés attirent l'attention sur l'existence de processus généraux réglant le développement et l'évolution du système osseux. A la vérité le synchronisme que présente la croissance des diverses pièces squelettiques est déjà par lui-même une démonstration de celle-ci et l'examen seul de la figure 5 en est la preuve. Mais c'est là une notion trop souvent oubliée et l'on accorde bien à tort plus d'importance à la diversité des mécanismes histologiques de l'ossification qu'à l'identité des résultats obtenus par la mise en jeu des uns et des autres.

Les résultats que nous avons obtenus sont assez démonstratifs pour qu'il n'y ait pas besoin de commenter longuement les conclusions générales qu'ils comportent. Cependant nous insisterons sur le fait suivant : *malgré les diverses interprétations que l'on peut donner aux phénomènes chimiques dont le squelette est le siège pendant la croissance et au cours de la vie, l'allure des processus biochimiques de l'ossification n'est pas celle de phénomènes continus*. Elle est caractérisée par plusieurs étapes dont nous avons déjà longuement parlé. De plus les faits qui se dégagent de ce travail établissent que le système osseux forme un tout dans lequel les organes osseux, malgré leur différenciation anatomique, n'ont qu'une autonomie physiologique des plus restreintes ; les étapes du développement de celui-ci sont simultanées dans tous les os et présentent des caractères qualitativement identiques quelque soit la pièce squelettique considérée. D'autres faits biochimiques viennent à l'appui de cette manière de voir. La teneur en phosphatase des divers os au cours de la croissance subit des variations parallèles (ROBISON [57], ROCHE, FILIPPI et LÉANDRI [60]). Par ailleurs le squelette est, après fracture d'un os, le siège de modifications générales de son activité phosphatase (ROCHE et FILIPPI [59]) ou de sa composition (ROCHE et MOURGUE [63]). Pour MOURGUE [47] « l'ensemble du squelette participe à des réactions générales quand l'un de ses organes osseux a été lésé. La réparation d'une fracture n'est pas, comme beaucoup le croient, un processus localisé à la lésion seule, et d'autre part, l'ensemble du système osseux constitue un sys-

tème physiologiquement homogène. La calcification de ce système osseux est régie par des mécanismes généraux ».

Il est à peu près indifférent à cet égard que l'ossification ait lieu par mécanisme endochondral, membraneux ou haversien. Dans le cas particulier des incisives il est remarquable que les modifications de composition affectant à l'état adulte ces organes osseux à croissance continue soient les mêmes que celle des os dont le développement est alors terminé. C'est là une démonstration particulièrement nette de la *généralité des processus régissant l'évolution des diverses pièces squelettiques*. En effet ce n'est pas la croissance des dents étudiées qui détermine les modifications de leur composition chez les animaux adultes, mais, bien au contraire, celles-ci traduisent des « réactions générales » du squelette. Comme POLICARD et J. ROCHE [54] l'ont récemment exposé, la formation et l'évolution de la substance osseuse et non celles du tissu ou des organes qui la contiennent — dominant la physiologie du système osseux.

Une telle conception est très éloignée de celle, au demeurant simpliste, ne considérant les os que comme des organes de soutien et le squelette comme une sorte de charpente inerte. L'ensemble des os constitue au contraire un système physiologiquement homogène, présentant dans son développement les mêmes étapes que la plupart des viscères, des glandes endocrines, et participant au même titre qu'eux à la vie de l'organisme et aux processus généraux réglant l'activité de ses diverses parties.

V. — Résumé et conclusions.

L'étude des variations du rapport : phosphore/azote (P/N), a été poursuivie dans divers os, principalement dans les os plats (os membraneux de la voute du crâne, omoplate) et dans les incisives du Rat au cours de la croissance et à l'état adulte. Nos résultats ont été comparés à ceux de recherches antérieures du même ordre faites par A. ROCHE et I. GARCIA [61] sur les os longs (fémurs et tibias), et les conclusions suivantes ont été tirées de notre travail.

I. — *La composition de l'ensemble du système osseux présente au cours de la vie des animaux une succession de modi-*

fications synchrones que nous avons mises en évidence sur des os longs, des os plats et des dents.

II. — *Ces modifications sont indépendantes des mécanismes histologiques d'ossification* (endochondral, membraneux ou haversien) dont la pièce squelettique est le siège.

III. — Dans une première partie de la vie des animaux *l'organisation du squelette évolue en trois étapes* — simultanées à celles du développement des autres organes — au cours desquelles les os se minéralisent suivant un rythme tel qu'ils présentent tous simultanément des périodes successives d'enrichissement en sels ; ils s'appauvrissent en sels chez l'adulte.

IV. — La formation des réserves minérales osseuses s'opère probablement surtout en fin de croissance, les os plats et les dents présentant par la suite une plus grande aptitude que les os longs à perdre leurs réserves.

V. — *Le système osseux forme un ensemble physiologique homogène, dans lequel les organes osseux n'ont, malgré leur différenciation anatomique, qu'une autonomie assez restreinte.* Ce système est, au cours de la vie, le siège d'une succession de modifications dans sa composition en relation directe avec les processus généraux réglant l'activité et le développement de l'ensemble des organes auxquels il sert mécaniquement de support.

SECONDE PARTIE.

Sur l'action de la vitamine D et des déséquilibres salins alimentaires dans les processus d'ossification.

Sensibilité comparée des os longs et des os plats.

I. — Introduction et objet des recherches.

Nous avons vu dans l'introduction de ce travail quels étaient les facteurs alimentaires de la croissance et de la calcification des os et en particulier l'action de la vitamine D sur l'ossification. De nombreux auteurs, HESS, MOURIQUAND et LEULIER, PAPPENHEIMER, SHERMANN, STEENBOCK et leurs collaborateurs, ont établi que l'action de la vitamine D sur le développement et la calcification du squelette sont liées à la composition des sels du régime. Nous basant sur ces faits nous nous sommes efforcés de montrer dans cette seconde partie de notre travail *le comportement des os longs et des os plats vis-à-vis de la vitamine D chez des animaux recevant des régime salins déséquilibrés à divers degrés.*

On sait depuis les travaux de BRUCE et CALLOW [6] que les lésions rachitiques expérimentales provoquée par des déséquilibres salins régressent par administration de vitamine D ou d'aliments équilibrés en sels, chacun de ces facteurs thérapeutiques ayant son action renforcée par celle de l'autre quand ils sont mis en œuvre simultanément. Les problèmes qui se sont posés alors étaient de savoir quel rapport doit exister entre d'une part le calcium et le phosphore entrant dans la composition du régime à administrer, et d'autre part la quantité de vitamine D susceptible de renforcer l'action des facteurs alimentaires. Divers auteurs anglais ont étudié les doses toxiques et thérapeutiques de vitamine D à administrer à des Rats présentant des lésions du squelette ; d'après leurs expériences

nous avons adopté la dose de 4.000 unités internationales par jour de vitamine D₂ cristallisée, en solution huileuse, cette dose étant très forte et non toxique. Nos animaux ont été nourris avec des régimes salins déséquilibrés ayant des rapports : Ca/P très différents.

L'existence d'une ossification endochondrale (cartilage de conjugaison), disparaissant chez l'adulte, dans les os longs des animaux jeunes et celle d'une ossification de croissance strictement membraneuse dans certains os plats nous ont paru mériter de retenir l'attention à cet égard. C'est pourquoi nos expériences ont porté sur des animaux préadultes et adultes. Ceux-ci ont été soumis à une alimentation équilibrée ou non et additionnée ou non de vitamine D afin d'étudier l'action de celle-ci en fonction de la composition en sels du régime. Considérant que l'os est formé d'un support protéique sur lequel se déposent des sels, nous avons étudié le rapport existant entre la mantisse protéique et les dépôts salins des diverses pièces squelettique. Le dosage du phosphore et de l'azote ainsi que le rapport : P/N nous ont permis d'établir un indice chimique de l'ossification du squelette caractéristique des facteurs thérapeutiques dont nous parlions plus haut : la vitamine D et les aliments équilibrés en sels.

Notre but est d'apporter une contribution à l'étude de l'action de la vitamine D et des déséquilibres salins dans les divers processus d'ostéogénèse sur les os longs et sur les os plats. Nous l'avons entreprise parallèlement sur les incisives afin de pouvoir généraliser nos résultats ; nous n'avons malheureusement pas pu poursuivre cette dernière partie de notre travail aussi longtemps que nous l'espérions.

II. — Marche des expériences et technique.

Toutes les expériences que nous avons entreprises ont été effectuées sur des Rats provenant du même élevage que ceux dont nous nous sommes servis pour les recherches décrites dans la première partie de notre travail. Les animaux ont été placés dans des cages à double fond afin d'assurer l'évacuation instantanée des excréments et de l'urine, en vue, non seulement d'une bonne tenue de la cage, mais surtout pour prévenir la tendance des animaux en expérience à la coprophagie et à

l'ingestion de leur urine. Ils ont tous reçu une alimentation de base dérivant du régime rachitigène de RANDOIN-LECOQ (en abrégé régime R.-L.). Nous rappelons brièvement la composition de ce dernier :

Peptone de muscle	17 parties
Levure de bière sèche.....	3 —
Graisse de beurre purifiée.....	5 —
Huile d'olive	5 —
Saccharose	65 —
Mélange salin de PAPPENHEIMER.....	4 —
Lactate de chaux	1 —
Sciure de bois lavée.....	5 —

Notre régime de base est constitué par celui de Randoïn-Lecoq non additionné de sels (mélange de PAPPENHEIMER et lactate de calcium).

Le beurre purifié est ainsi préparé : on fond à 40° du beurre ordinaire en présence de sept à huit fois son poids d'eau distillée ; après refroidissement l'eau devenue laiteuse est éliminée puis remplacée par de l'eau distillée ; on répète cette opération cinq ou six fois jusqu'à ce que l'eau ajoutée en dernier lieu soit exempte de protéines et de sels.

La sciure de bois est lavée avec de la lessive de soude diluée et chauffée ; on rince ensuite jusqu'à ce que les eaux de lavage soient neutres, et on sèche.

N° du régime	Composition	Ca/P	Caractéristique du régime
I	Régime de base + 4 p. 100 de mélange salin équilibré d'Osborne.	1,4- 1,5	Régime équilibré en sels ; valeur optima de : Ca/P.
II	Régime de RANDOIN et LECOQ.	2,9- 3,0	Régime déséquilibré par excès de Ca et de radicaux basiques.
III	Régime II + 2 p. 100 de carbonate de calcium.	9,0-10,0	Régime fortement déséquilibré par gros excès de Ca et de radicaux basiques.
IV	Régime II + 4 p. 100 de glycérophosphate de sodium.	0,7- 0,8	Régime déséquilibré par excès de P et de radicaux acides.

Nos expériences ont porté sur quatre lots de Rats préadultes et adultes recevant l'alimentation de base additionnée de divers sels ; nous avons ainsi constitué quatre régimes dont la composition et les caractéristiques ont été indiqués ci-dessus.

Chacun de ces régimes a été administré pendant des périodes allant de 45 à 60 jours à un lot de quatorze Rats, les uns en croissance (très jeunes de 30 à 40 g., préadultes de 80 à 90 g.), les autres adultes (de 130 à 170 g.). Une partie des animaux de chaque série a reçu quotidiennement 4000 Unités Internationales de vitamine D (vitamine D₂ cristallisée pure) (1) « per os » en solution huileuse, les autres animaux servant de témoins. Cette quantité de vitamine est considérable, car 100 Unités Internationales constituent la dose quotidienne permettant la croissance d'un enfant. Elle est néanmoins bien supportée, pendant 40 à 60 jours, sans manifestation d'hypervitaminose par le Rat en croissance recevant un régime équilibré en sels. Ceci étant, nous avons pensé qu'il y aurait intérêt à mettre en œuvre une quantité aussi importante, mais non toxique, de vitamine D pour étudier l'action comparée de celle-ci chez l'animal en croissance et chez l'adulte.

Nous avons procédé ensuite comme pour les animaux normaux ; mais dans le cas présent les Rats étant soumis aux divers régimes ont été pesés quotidiennement afin d'avoir leur courbe de croissance. Quelques uns des animaux n'ont pas supporté leur régime et sont morts dans un état de cachexie très prononcé ; certaines femelles ont mis bas au cours de l'expérience comme on peut le voir (flèches) sur les courbes de poids que nous donnons plus loin. Tous nos animaux ont été tués au gaz d'éclairage au bout de 60 jours d'expérience ; les différentes pièces osseuses à étudier, fémurs, tibias, omoplates, pariétaux ont été prélevées dans les mêmes conditions que pour les animaux normaux. Après minéralisation sulfurique de ces organes osseux préalablement desséchés jusqu'à poids constant à l'étuve à 105°, nous avons dosé le phosphore par la méthode de NEUMANN sur une partie aliquote du produit de minéralisation porté à un volume donné et l'azote par la méthode de KJELDAHL sur une autre partie aliquote de ce même produit de minéralisation. Nous avons ainsi obtenu

(1) Nous tenons à remercier le Docteur ROUSSEL qui nous a offert obligeamment toute la vitamine D₂ dont nous nous sommes servi au cours de nos expériences.

nu le taux d'azote et le taux de phosphore contenus dans chacune des pièces osseuses étudiées, nous permettant d'établir la valeur du rapport : P/N et d'étudier les variations de ce rapport en fonction des divers facteurs mis en jeu dans ces expériences à savoir la composition du régime et la présence ou l'absence de vitamine D₂.

III. — Résultats expérimentaux.

Nous avons réuni dans les courbes et les tableaux qui vont suivre, d'une part les variations de poids des animaux en fonction du temps d'expérience (figures 6 et 7) et d'autre part les résultats des examens chimiques pour chacune des pièces osseuses des divers animaux soumis aux différents régimes en présence ou non de la vitamine D₂ (tableaux IX à XXII).

Certains tableaux sont incomplets car nous nous sommes bornés à emprunter à I. GARCIA [68] les résultats qu'elle avait obtenus pour des animaux soumis aux mêmes régimes sans vitamine D. Ici aussi nous avons établi une moyenne pour les résultats obtenus sur les os droit et gauche bien que les dosages aient été effectués séparément. Nous avons abordé également l'étude des incisives, mais n'ayant pas assez de résultats, nous avons préféré ne pas traiter complètement cette partie du problème, qui sera l'objet d'un prochain travail.

Les tableaux qui vont suivre nous ont permis de tracer certaines courbes comparatives sur lesquelles nous essayerons dans les chapitres suivants de discuter les résultats obtenus afin d'en tirer des conclusions pratiques du point de vue biologique et clinique. Ces courbes traduisent les valeurs du rapport : P/N des différentes pièces osseuses de Rats soumis aux divers régimes avec ou sans vitamine D en fonction du poids des animaux ; nous avons également tracé comme terme de comparaison les valeurs des rapports : P/N calculées pour des animaux tels qu'ils seraient normalement en fin d'expérience si leur croissance ou leur maintien n'avait pas été affecté par le régime.

On trouvera tout d'abord dans les figures 6 et 7 les courbes de poids des animaux. Il suffira de se reporter aux mêmes numéros sur ces figures et dans les premières colonnes des tableaux IX à XXII pour se rendre compte des modifications subies par le poids et la composition des os de chaque animal au cours des expériences.

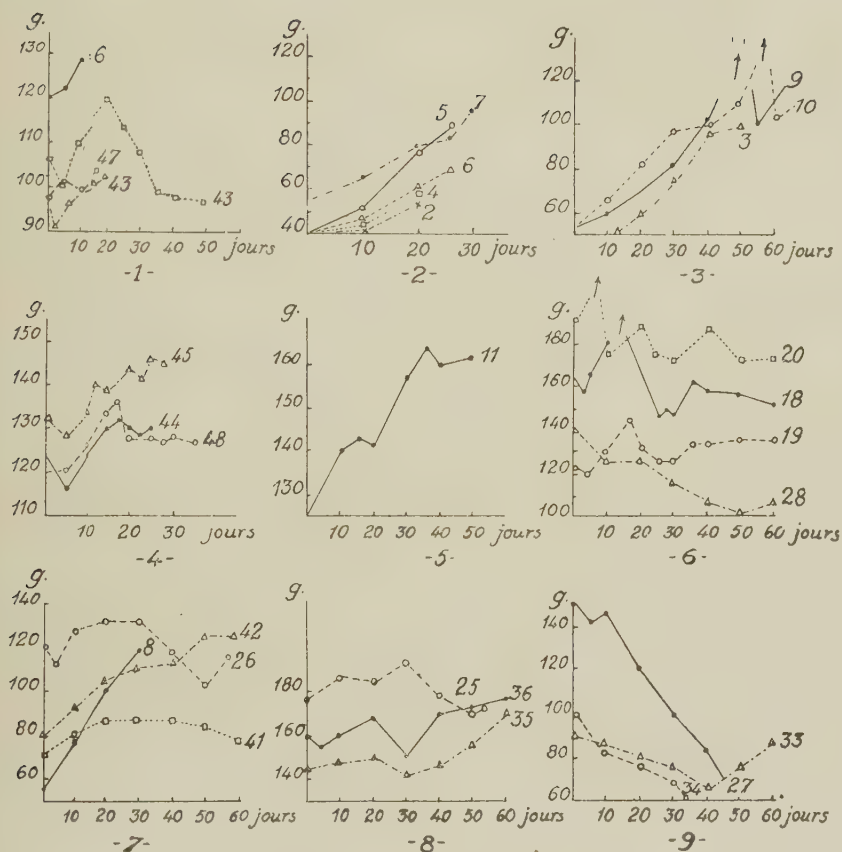


FIGURE 6. — Courbes de croissance des animaux en fonction du temps d'expérience.

Courbes 1 et 4 : Rats soumis au Régime II sans vitamine D.
 Courbes 2, 3 et 5 : Rats soumis au Régime II avec vitamine D.
 Courbes 6 et 9 : Rats soumis au Régime IV sans vitamine D.
 Courbes 7 et 8 : Rats soumis au Régime IV avec vitamine D.

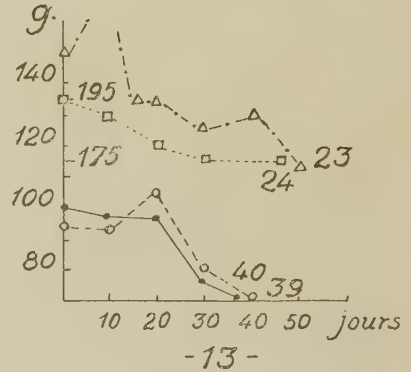
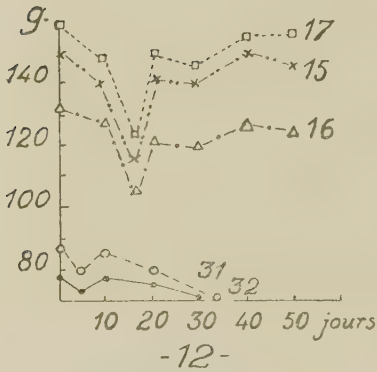
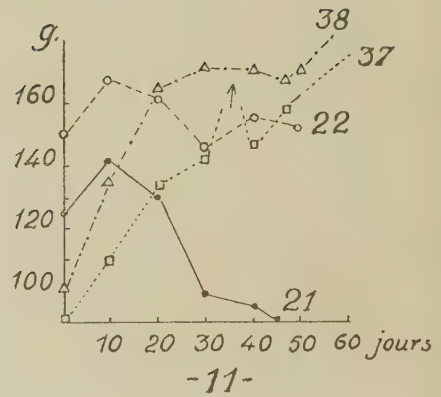
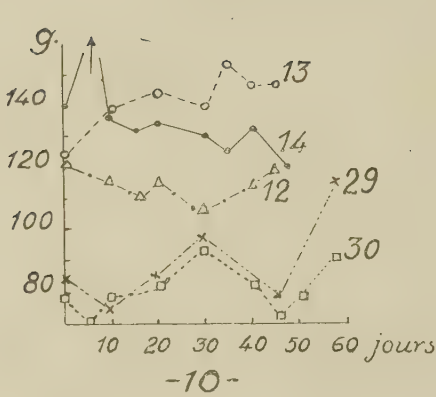


FIGURE 7. — Courbes de croissance des animaux en fonction du temps d'expérience.

Courbes 10 : Rats soumis au Régime I sans vitamine D.

Courbes 11 : Rats soumis au Régime I avec vitamine D.

Courbes 12 : Rats soumis au Régime III sans vitamine D.

Courbes 13 : Rats soumis au Régime III avec vitamine D.

Abscisses : temps d'expérience (jours). Ordonnées : poids (grammes).

TABLEAU IX.

Teneurs en eau, en azote, en phosphore, et rapport : P/N des fémurs de Rats soumis au régime RANDOIN-LECOQ (II) sans vitamine D et avec vitamine D.

Animaux N°	Durée de l'expé- rience (jours)	Eau p. 100	Azote			Phosphore			P/N
			total (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	total (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	
Sans vitamine D.									
R 81	9	65		2,73	7,38		1,96	5,28	0,72
R 79	16	67		3,10	9,42		2,04	6,32	0,67
R 72	20	69		3,17	9,56		1,89	5,60	0,59
R 75	25	61		3,10	7,22		3,26	8,35	1,04
R 85	25	83		3,02	8,12		2,41	6,41	0,79
R 82	33	53		3,36	6,95		4,08	8,58	1,23
R 84	53	45		3,22	5,79		5,42	9,82	1,69
Avec vitamine D.									
R 4	19	53	7,23	2,42	3,87	9,35	4,03	8,75	1,29
R 2	21	52	7,10	4,81	6,99	8,49	3,98	8,35	1,20
R 5	25	53	7,00	2,87	6,15	11,43	4,07	8,80	1,43
R 6	25	54	9,25	3,42	7,55	11,28	4,16	9,32	1,22
R 8	30	43	9,15	2,80	6,95	15,59	4,84	8,50	1,60
R 7	31	46	10,02	3,54	6,57	15,98	5,60	10,24	1,60
R 3	50	47	5,80	3,29	6,07	14,35	6,38	10,45	1,73
R 10	58	41	10,32	3,23	5,43	21,19	6,54	11,14	2,04
R 11	58	34	13,75	3,24	4,92	31,40	7,40	11,30	2,34
R 9	59	41	9,24	3,03	5,05	18,17	5,90	9,88	1,97
R 1	113	37	6,45	1,57	2,47	27,52	6,65	10,70	4,25

(1) Le poids des animaux au début et en fin d'expérience peut être retrouvé sur les courbes de poids.

(2) Les résultats « Sans vitamine D » ont été empruntés à I. GARCIA [18].

TABLEAU XI.

Teneur en eau, en azote, en phosphore et rapport : P/N des omoplates de Rats soumis au régime RANDOIN-LECOQ (II) sans vitamine D et avec vitamine D.

Animaux N°	Durée de l'expé- rience (jours)	Eau p. 100	Azote			Phosphore			P/N
			total (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	tótal (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	
Sans vitamine D.									
R 46	8	39	6,12	3,52	5,82	9,84	5,65	9,37	1,60
R 47	15	41	4,87	3,58	5,87	9,43	6,68	11,37	1,30
R 43	19	39	5,25	3,43	5,71	9,70	6,35	10,55	1,84
R 44	24	33	5,37	2,98	4,50	9,87	5,48	8,29	1,74
R 45	27	44	5,87	2,95	5,29	11,08	5,57	10,00	1,88
R 48	36	37	9,41	5,74	9,23	17,89	10,90	17,50	1,90
R 49	50	41	5,50	3,55	6,05	11,35	7,32	12,50	2,06
Avec vitamine D.									
R 8	30	51	9,00	3,65	7,58	9,77	3,95	8,18	1,07
R 7	31	58	8,00	3,58	8,55	8,02	8,70	8,75	1,00
R 10	58	47	7,37	3,47	6,57	11,32	5,35	10,10	1,54
R 11	58	37	9,62	3,80	6,12	14,62	5,80	9,35	1,52
R 9	59	44	6,37	3,50	6,29	8,72	4,82	8,63	1 37

Voir note (1) au bas du tableau IX.

TABLEAU XVII.

Teneurs en eau, en azote, en phosphore et rapport : P/N des omplates de Rats soumis au régime RANDOIN-LECOQ + 4 p. 100 glycérophosphate de soude (IV) sans vitamine D et avec vitamine D.

Animaux N°	Durée de l'expé- rience (jours)	Eau p. 100	Azote			Phosphore			P/N
			total (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	total (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	
Sans vitamine D.									
R 34	32	35	4,75	3,97	6,15	7,89	6,55	10,22	1,69
R 27	46	35	6,75	3,68	5,81	10,51	5,75	9,05	1,57
R 18	54	29	8,50	3,92	5,58	18,42	8,50	12,05	2,16
R 19	60	34	7,50	4,10	6,26	12,30	6,72	10,22	1,64
R 28	61	36	0,37	3,58	5,68	14,28	6,92	11,00	1,93
R 33	62	34	6,12	4,40	6,72	15,53	11,25	17,20	2,53
R 20	65	32	9,12	3,48	5,12	18,10	6,92	10,18	1,95
Avec vitamine D.									
R 25	53	30	4,87	17,60	25,40	15,97	5,78	8,28	3,27
R 26	55	33	7,25	4,28	6,35	18,12	10,62	15,95	2,50
R 35	58	34	8,50	3,23	4,91	17,15	7,32	11,14	2,01
R 36	58	32	8,12	3,48	5,11	19,91	8,52	12,52	2,45
R 41	62	35	4,75	2,84	4,42	12,67	9,80	15,27	2,66
R 42	63	34	5,12	3,34	5,06	12,70	8,30	12,56	2,48
Voir note (1) au bas du tableau IX.									

TABLEAU XIX.

Teneurs en eau, en azote, en phosphore et rapport : P/N des fémurs de Rats soumis à divers régimes sans vitamine D et avec vitamine D.

Animaux N°	Durée de l'expé- rience (jours)	Eau p. 100	Azote			Phosphore			P/N
			Total (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	total (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	
Régime de base + 4 p. 100 sel d'Osborne (I).									
Sans vitamine D.									
R 12	45	29	12,30	3,00	4,28	28,85	7,05	10,05	2,35
R 13	46	33	12,56	3,36	5,08	29,46	7,90	11,85	2,34
R 14	47	31	11,75	3,20	4,65	28,52	7,78	11,31	2,43
R 29	62	42	8,87	3,04	5,33	18,46	6,32	11,07	2,08
R 30	69	37	9,12	3,32	5,28	23,21	8,45	13,38	2,56
Avec vitamine D.									
R 21	43	38	10,24	2,91	4,69	22,20	6,32	10,19	2,17
R 22	49	31	12,53	2,81	4,06	27,44	6,06	8,90	2,18
R 37	59	34	10,15	2,77	4,23	28,13	8,69	13,23	2,75
R 38	60	34	13,87	2,91	4,00	35,58	7,53	11,38	2,56
Régime RANDOIN-LECOQ + 2 p. 100 CO ₃ Ca (III).									
Sans vitamine D.									
R 31	31	41	6,68	3,30	5,89	12,88	6,32	10,90	1,93
R 32	34	38	7,00	3,20	5,15	16,10	7,14	11,50	2,30
R 15	52	38	13,90	3,24	5,22	30,96	7,28	11,70	2,21
R 16	52	39	13,08	3,23	5,33	27,03	6,59	10,99	2,07
R 17	54	35	12,62	2,94	4,52	28,15	6,56	10,13	2,24
Avec vitamine D.									
R 40	35	44	5,12	1,81	3,22	11,67	4,10	7,34	2,28
R 39	38	30	8,81	3,48	5,02	25,83	10,20	14,64	2,93
R 23	49	41	12,40	2,97	5,04	27,44	6,62	11,22	2,22
R 24	50	32	16,07	2,97	4,38	32,76	5,98	8,80	2,00

TABLEAU XX.

Teneurs en eau, en azote, en phosphore et rapport : P/N des tibias de Rats soumis à divers régimes sans vitamine D et avec vitamine D.

Animaux N°	Durée de l'expé- rience (jours)	Eau p. 100	Azote			Phosphore			P/N
			total (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	total (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	
Régime RANDOIN-LECOQ + 2 p. 100 CO ₃ Ca (III).									
Sans vitamine D.									
R 12	45	31	9,18	3,11	4,26	21,86	7,30	10,08	2,37
R 13	46	29	10,31	3,50	4,97	26,36	8,89	12,53	2,51
R 14	47	30	9,25	3,47	4,95	23,40	8,02	11,51	2,33
R 29	62	36	6,62	2,82	4,45	15,21	6,49	10,26	2,30
R 30	69	34	8,68	3,88	5,90	26,77	11,95	18,18	2,06
Avec vitamine D.									
R 21	43	36	9,81	3,21	5,12	21,54	7,06	11,26	2,19
R 22	49	27	10,75	3,17	4,38	27,29	8,05	11,13	2,53
R 37	59	29	9,00	3,11	4,42	26,18	9,07	13,00	2,90
R 38	60	32	11,38	3,00	4,48	29,63	7,94	16,78	2,65
Régime de base + 4 p. 100 sel d'Osborne (I).									
Sans vitamine D.									
R 31	31	39	5,06	3,85	5,25	10,98	7,30	11,47	2,18
R 32	34	31	5,18	3,32	4,87	13,81	8,70	12,70	2,63
R 15	52	32	9,68	3,01	4,42	25,28	7,84	11,56	2,61
R 16	52	36	10,18	3,06	4,73	22,53	6,80	10,59	2,42
R 17	54	31	10,56	3,11	4,50	25,49	7,52	10,85	2,42
Avec vitamine D.									
R 40	35	39	6,00	3,01	4,98	12,31	6,21	10,19	2,05
R 39	38	26	6,05	3,14	4,08	17,25	10,50	14,11	2,84
R 23	49	36	8,87	3,23	5,09	19,37	7,06	11,13	1,18
R 24	50	31	13,42	3,11	54,5	29,08	6,80	9,93	2,18

TABLEAU XXI.

Teneurs en eau, en azote, en phosphore et rapport : P/N des omoplates de Rats soumis à divers régimes sans vitamine D et avec vitamine D.

Animaux N°	Durée de l'expé- rience (jours)	Eau p. 100	Azote			Phosphore			P/N
			total (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	total (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	
Régime de base + p. 100 sel d'Osborne (I).									
Sans vitamine D.									
R 12	45	39	9,00	3,75	6,18	15,50	6,42	10,60	1,72
R 13	46	35	10,25	5,06	7,77	12,87	6,31	9,72	1,50
R 14	47	32	8,25	3,87	5,68	15,90	7,45	10,90	1,93
R 29	62	37	4,62	3,31	5,30	6,97	5,00	7,99	1,50
R 30	69	34	5,00	3,45	5,27	12,73	8,77	13,40	2,54
Avec vitamine D.									
R 21	43	37	5,75	2,77	4,42	12,80	6,18	9,84	2,22
R 22	49	29	8,50	3,64	5,18	20,79	8,92	12,86	2,44
R 37	59	30	6,50	3,76	5,37	17,08	9,86	14,10	2,62
R 38	60	29	8,87	3,67	5,19	20,48	8,45	11,95	2,30
Régime RANDOIN-LECOQ + 2 p. 100 CO ₃ Ca (III).									
Sans vitamine D.									
R 31	31	30	3,62	4,06	5,92	7,00	7,85	11,42	1,93
R 32	34	21	3,75	4,52	5,76	6,80	8,20	10,48	1,81
R 15	52	39	9,87	3,68	6,12	15,79	5,89	9,80	1,60
R 18	52	41	7,87	3,48	5,92	9,84	4,37	7,45	1,25
R 17	54	35	9,75	3,55	5,50	19,15	6,92	10,80	1,70
Avec vitamine D.									
R 40	35	33	4,62	3,57	5,36	7,11	5,50	8,27	1,53
R 39	38	36	6,00	4,56	7,15	11,15	8,38	13,28	1,85
R 23	49	35	10,12	3,70	5,75	20,59	7,54	11,03	3,03
R 24	50	20	10,37	2,08	2,60	22,51	4,52	5,65	2,17

TABLEAU XXII.

*Teneurs en eau, en azote, en phosphore et rapport : P/N des parié-
taux de Rats soumis à divers régimes sans vitamine D et avec vi-
tamine D.*

Animaux N°	Duree de l'expe- rience (jours)	Eau p. 100	Azote			Phosphore			P/N
			total (mg.)	p. 100 poids frais	p. 100 poids sec	total mg.	p. 100 poids frais	p. 100 poid sec	
Régime de base + p. 100 sel d'Osborne (I).									
Sans vitamine D.									
R 12	45	34	14,00	3,82	5,80	20,99	5,70	8,65	4,49
R 13	46	37	11,00	3,76	6,00	21,02	7,40	11,50	1,92
R 14	47	30	12,25	3,97	5,69	20,90	6,78	9,62	1,70
R 29	62	24	4,25	3,12	4,16	8,39	6,15	8,40	1,97
R 30	69	27	5,25	3,36	4,65	15,19	9,72	13,40	2,89
Avec vitamine D.									
R 21	43	58	5,00	2,25	5,37	11,82	5,32	12,70	2,36
R 22	49	20	6,37	3,79	4,75	17,24	10,26	12,86	2,70
R 37	59	21	5,75	3,66	4,63	15,94	10,16	12,85	2,77
R 38	60	20	7,25	3,19	4,00	16,95	7,46	9,35	2,33
Régime RANDOIN-LECOQ + 2 p. 100 CO ₃ Ca (III).									
Avec vitamine D.									
R 31	31	13	4,62	4,28	4,96	13,89	11,89	11,00	2,56
R 32	34	20	4,65	4,22	5,36	10,81	9,85	12,45	2,32
R 15	52	33	12,62	3,42	5,11	28,20	7,62	11,40	2,23
R 16	52	36	11,37	3,37	5,32	21,97	6,51	10,55	1,93
R 17	54	35	9,75	3,56	5,53	20,35	7,45	11,56	2,06
Sans vitamine D.									
R 40	35	26	4,75	3,21	4,36	14,01	9,48	12,85	2,95
R 39	38	26	5,00	3,57	4,85	11,99	8,55	11,62	2,39
R 23	49	25	6,15	4,52	6,09	13,81	10,15	13,67	2,24
R 24	50	27	8,75	3,54	4,86	20,86	8,44	11,58	2,28

V. — Examen d'ensemble et discussion des résultats.

L'ensemble de nos résultats mérite d'être discuté à divers points de vue, dont certains intéressent le mode d'action de la vitamine D et d'autres la différence de sensibilité des os longs et des os plats aux facteurs alimentaires de dystrophie.

Avant de les examiner en détail nous croyons devoir présenter les tableaux ci-dessous contenant les valeurs des rapports : P/N déterminés sur les os des animaux étudiés dans diverses conditions expérimentales et les courbes établies à partir de ceux-ci. Afin que les résultats puissent être utilement discutés il convenait de se rapporter à un étalon de comparaison. Le choix de celui-ci a été des plus délicats. En effet seuls certains animaux d'expérience jeunes ont présenté un développement normal et tous les animaux adultes étudiés n'ont pas conservé leur poids pendant la durée de la recherche. Aussi ne pouvait-on comparer le degré de minéralisation de leurs os à celui d'animaux normaux présentant le même poids en fin d'expérience. Malgré l'imprécision relative qu'une telle manière d'opérer comporte nous avons cru devoir choisir comme étalon de comparaison le rapport : P/N que les os des animaux auraient présenté si leur courbe de poids avait été normale pendant la durée de l'expérience. La valeur moyenne de ce rapport étant établie par les courbes de la figure 5 pour des animaux du même élevage de divers poids et les courbes de croissance moyennes étant celles reproduites sur la figure 1, le calcul approximatif du rapport : P/N « témoin » a pu être fait de manière satisfaisante. On trouvera ci-dessous le détail de ces données comparatives.

TABLEAU XXIII.

Valeur comparée du rapport : P/N des divers os d'animaux mis en expérience et d'animaux témoins normaux (valeurs moyennes).

Numéros des animaux	Poids des animaux	P/N des os étudiés				
		Fémurs	Tibias	Omo- plates	Parié- taux	Incisi- ves
Régime de base + 4 p. 100 sel d'Osborne (I).						
Sans vitamine D.						
{ R 30	77 — 100	2,56	2,06	2,54	2,89	5,27
{ Témoin	77 — 135	2,20	1,90	1,65	2,20	4,60
{ R 29	85 — 117	2,08	2,30	1,50	1,97	5,45
{ Témoin	85 — 150	2,00	2,20	1,70	2,15	4,60
{ R 12	123 — 120	2,35	2,37	1,72	1,49	
{ Témoin	123 — 149	2,30	2,50	2,10	2,70	
{ R 13	123 — 148	2,34	2,51	1,50	1,92	
{ Témoin	123 — 149	2,30	2,50	2,10	2,70	
{ R 14	140 — 120	2,43	2,33	1,93	1,70	
{ Témoin	140 — 170	2,60	2,35	2,20	2,70	
Avec vitamine D						
{ R 37	85 — 199	2,75	2,90	2,62	2,77	4,58
{ Témoin	85 — 135	2,70	2,90	2,10	2,70	4,80
{ R 38	100 — 205	2,56	2,65	2,30	2,33	5,45
{ Témoin	100 — 190	2,70	2,90	2,10	2,70	4,80
{ R 21	125 — 74	2,17	2,19	2,22	2,30	
{ Témoin	125 — 155	2,30	2,45	2,10	2,65	
{ R 22	150 — 152	2,18	2,53	2,44	2,70	
{ Témoin	150 — 170	2,50	2,70	2,10	2,70	

TABLEAU XXIV.

Valeur comparée du rapport : P/N des divers os d'animaux mis en expérience et d'animaux témoins normaux (valeurs moyennes).

Numéros des animaux	Poids des animaux	P/N des os étudiés				
		Fémurs	Tibias	Omo- plates	Parié- taux	Incisi- ves
Régime RANDOIN et LECOQ (II).						
Sans vitamine D.						
{ R 49	106 — 95	résultats empruntés à I. GARCIA	résultats empruntés à I. GARCIA	2,06	2,75	5,27
{ Témoin	106 — 150			1,75	2,65	4,50
{ R 43	97 — 104			1,84	2,32	4,53
{ Témoin	97 — 110			1,65	2,15	4,40
{ R 48	120 — 128			1,90	2,55	5,10
{ Témoin	120 — 150			1,90	2,40	4,70
{ R 44	123 — 130			1,74	2,60	4,59
{ Témoin	123 — 150			1,75	2,30	4,60
{ R 45	132 — 145			1,88	2,50	4,62
{ Témoins	132 — 155			2,10	2,75	4,75
Avec vitamine D.						
{ R 7	90 — 55	1,60	1,62	1,00	1,32	
{ Témoin	90 — 110	1,45	1,80	1,50	2,05	
{ R 3	40 — 100	1,73	1,86			
{ Témoin	40 — 100	1,55	1,30			
{ R 10	55 — 110	2,04	2,02	1,54	1,75	
{ Témoin	55 — 110	1,80	1,45	1,50	2,05	
{ R 9	55 — 120	1,97	1,95	1,37	1,64	
{ Témoin	55 — 110	2,05	1,68	1,60	2,10	
{ R 11	125 — 164	2,34	2,15	1,52	1,35	
{ Témoin	125 — 165	2,70	2,50	2,15	2,75	

TABLEAU XXV.

Valeur comparée du rapport : P/N des divers os d'animaux mis en expérience et d'animaux témoins normaux (valeurs moyennes).

Numéros des animaux	Poids des animaux	P/N des os étudiés				
		Fémurs	Tibias	Omo- plates	Parié- taux	Incisi- ves
Régime II + 2 p. 100 de carbonate de calcium (III).						
Sans vitamine D.						
{ R 31	72 — 50	1,93	2,18	1,93	2,56	5,10
{ Témoin	72 — 105	1,05	1,52	1,38	1,85	4,35
{ R 32	87 — 58	2,30	2,63	1,81	2,32	4,77
{ Témoin	87 — 115	1,49	1,82	1,48	2,00	4,40
{ R 16	133 — 125	2,07	2,42	1,25	1,93	
{ Témoin	133 — 160	2,40	2,60	2,10	2,60	
{ R 15	150 — 145	2,21	2,61	1,60	2,23	
{ Témoin	150 — 170	2,40	2,60	2,10	2,60	
{ R 17	163 — 157	2,24	2,42	1,70	2,06	
{ Témoin	163 — 169	2,60	2,70	2,05	2,50	
Avec vitamine D						
{ R 40 _i	100 — 50	2,28	2,05	1,53	2,95	5,30
{ Témoin	100 — 120	1,65	1,90	1,50	2,05	4,50
{ R 39	95 — 57	2,93	2,84	1,85	2,39	5,18
{ Témoin	95 — 120	1,65	1,90	1,48	2,05	4,55
{ R 23 _i	150 — 112	2,22	2,18	2,03	2,24	
{ Témoin	150 — 152	2,40	2,60	2,10	2,60	
{ R 24	195 — 174	2,00	2,18	2,17	2,38	
{ Témoin	195 — 195	2,35	2,45	1,80	2,50	

TABLEAU XXVI.

Valeur comparée du rapport : P/N des divers os d'animaux mis en expérience et d'animaux témoins normaux (valeurs moyennes).

Numéro des animaux	Poids des animaux	P/N des os étudiés				
		Fémurs	Tibias	Omo- plates	Parié- taux	Incisi- ves
Régime II + 4 p. 100 glycérophosphate de sodium (IV).						
Sans vitamine D.						
{ R 34	97 — 59	1,90	2,44	1,69	2,40	4,36
{ Témoin	97 — 120	1,70	2,08	1,56	2,08	4,48
{ R 33	90 — 87	2,55	2,07	2,53	3,51	5,70
{ Témoin	90 — 152	2,38	2,55	2,12	2,72	4,80
{ R 28	140 — 110	2,43	2,98	1,93	3,08	
{ Témoin	140 — 170	2,65	2,75	2,00	2,25	
{ R 19	123 — 139	1,97	2,22	1,64	2,06	
{ Témoin	123 — 160	2,55	2,65	2,18	2,75	
{ R 20	193 — 170	1,90	2,29	1,95	2,03	
{ Témoin	193 — 210	2,70	2,70	1,80	1,90	
Avec vitamine D						
{ R 41	70 — 75	3,03	2,53	2,66	3,58	
{ Témoin	70 — 150	1,50	1,75	1,50	2,05	
{ R 26	118 — 114	3,08	3,08	2,50	3,32	
{ Témoin	118 — 160	2,37	2,47	2,10	2,55	
{ R 42	80 — 125	2,65	2,61	2,48	2,51	
{ Témoin	80 — 130	1,70	2,10	1,55	2,05	
{ R 25	176 — 174	2,54	2,51	3,27	3,58	5,06
{ Témoin	176 — 185	2,65	2,70	1,75	1,85	4,25
{ R 35	145 — 176	2,21	2,40	2,01	2,01	4,40
{ Témoin	145 — 170	2,56	2,60	2,00	2,60	4,25

Ces données et les courbes de poids des animaux (figures 6 et 7) permettent un examen d'ensemble des résultats et leur discussion.

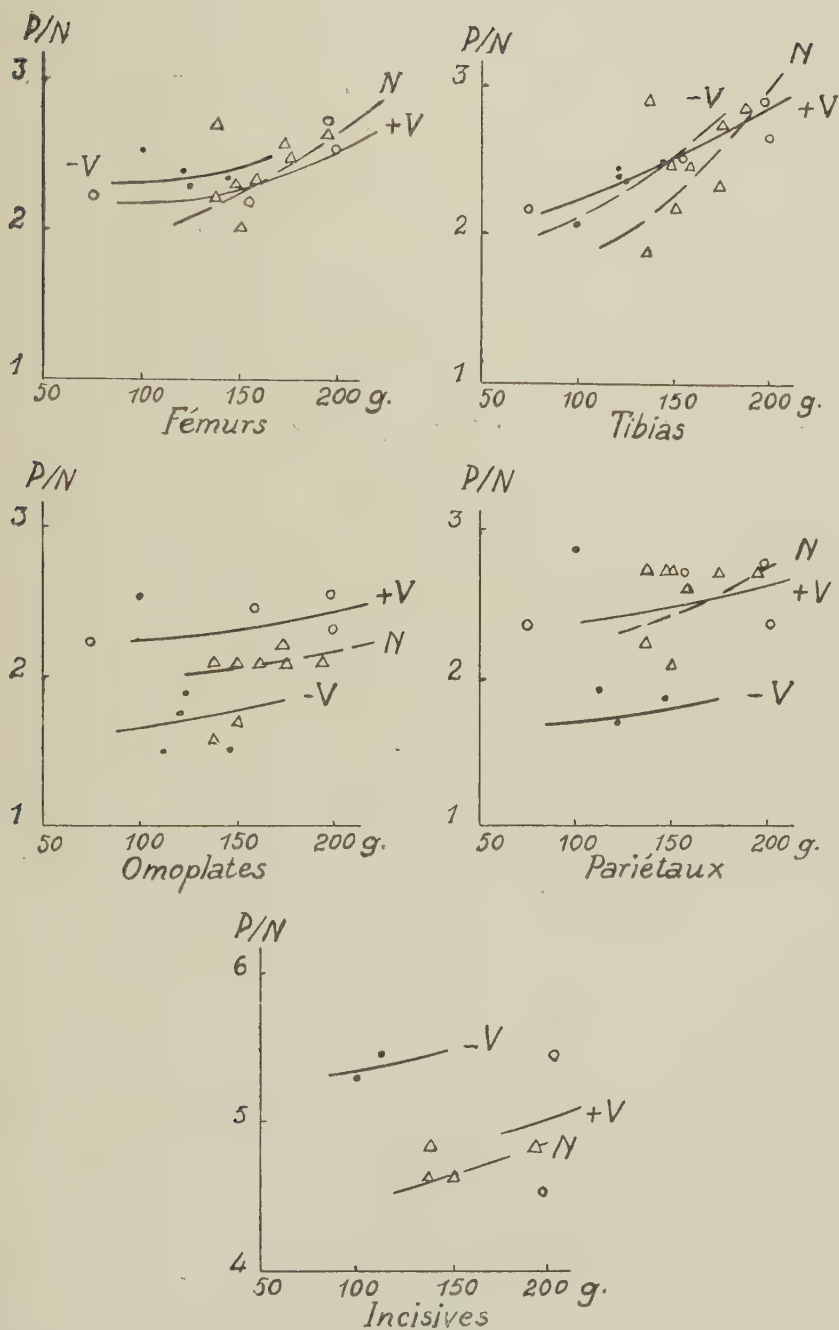
A. — EXAMEN D'ENSEMBLE DES RÉSULTATS OBTENUS.

Il y a lieu, pour la plus grande clarté de cet exposé, de dissocier les résultats obtenus avec les divers types de régime avant de dégager la signification générale des faits observés.

1. RÉGIME ÉQUILIBRÉ EN SELS. — Les animaux recevant une alimentation équilibrée en sels (Régime de RANDOIN-LECOQ avec mélange salin d'OSBORNE au lieu de celui de PAPPENHEIMER) additionné de lactate de calcium, de Ca/P : égal à 1,5, présentent une croissance nettement moins rapide en l'absence qu'en la présence de vitamine, et les animaux adultes n'augmentent alors que très faiblement de poids. L'addition de vitamine au régime permet par contre la restauration des conditions normales de développement. En outre, le degré de minéralisation des divers lots d'animaux n'est pas identique après un certain temps d'expérience.

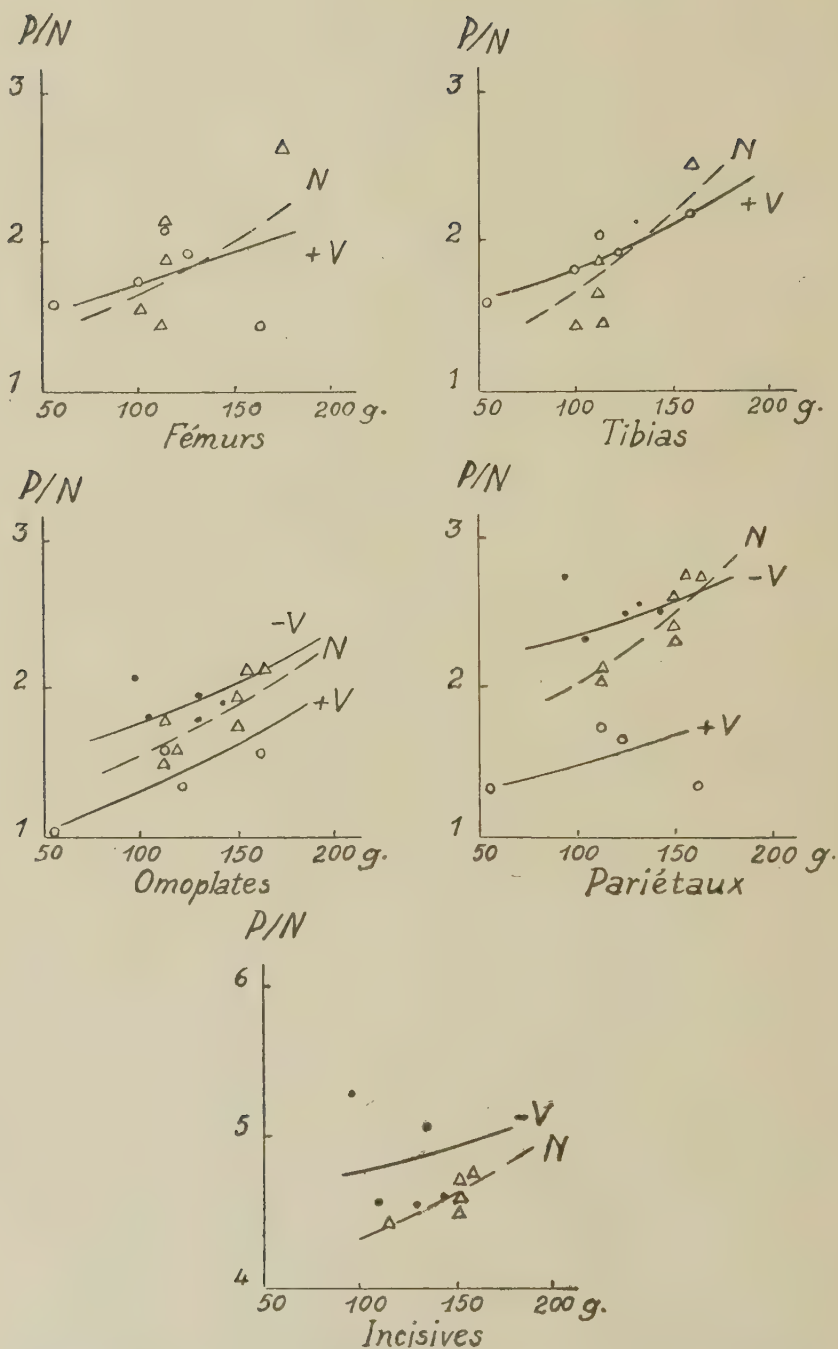
Les os longs présentent dans tous les cas un rapport : P/N dont la valeur est à peu près identique à celle des os d'animaux témoins. Leur minéralisation est donc normale, ce qui ne saurait surprendre puisque de nombreux travaux cités plus haut démontrent que la calcification du Rat — animal peu sensible à l'avitaminose D — est normale en l'absence de vitamine D si le régime est assez riche en sels phosphocalciques équilibrés. Par contre, les résultats présentent un plus grand intérêt en ce qui concerne les os plats. Ceux-ci sont nettement moins riches en phosphates en l'absence de vitamine, et la présence de celle-ci va de pair avec une minéralisation de ces os dépassant souvent celle des animaux normaux.

Il est donc certain que si *l'administration d'un régime équilibré et riche en sels phosphocalciques réalise à elle seule des conditions satisfaisantes de calcification du squelette chez le Rat, celle-ci n'en est pas moins favorisée par l'ingestion de vitamine D* dans les conditions où nous nous sommes placés. Le bénéfice obtenu n'est alors sensible que sur les os plats, mais il est loin d'être négligeable. Le mécanisme dont relève ce fait sera discuté plus bas. Par ailleurs l'action de la vitamine D sur la croissance mérite d'être soulignée puisqu'elle s'exerce même avec un régime équilibré en sels,



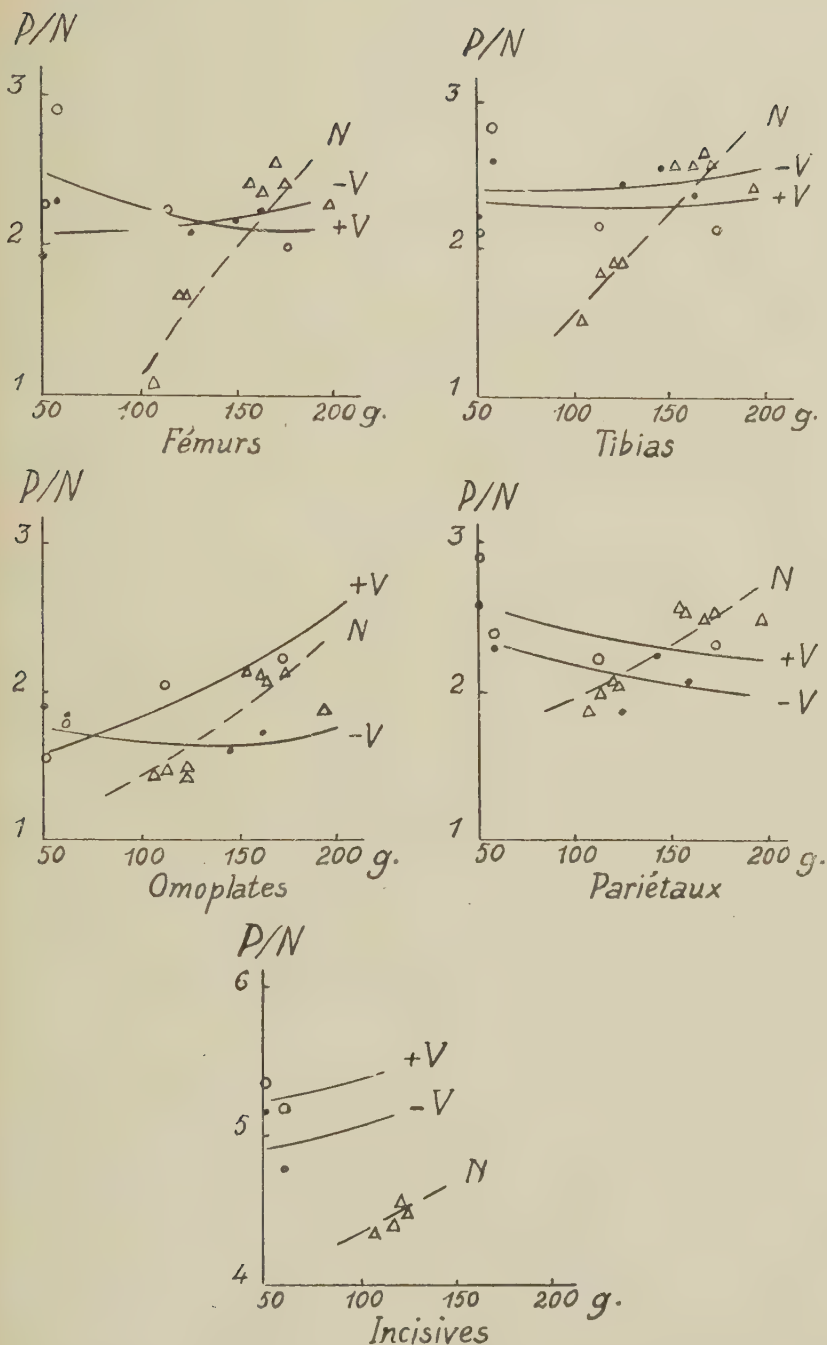
Normaux (N) Δ ; Avec vitamine (+V) $\circ$; Sans vitamine (-V) $\bullet$.

FIGURE 8. — Courbes du rapport : P/N de diverses pièces osseuses de Rats soumis au régime de base + 4 p. 100 de sel d'OSBORNE (I) et de Rats normaux (valeurs moyennes) en fonction du poids des animaux.



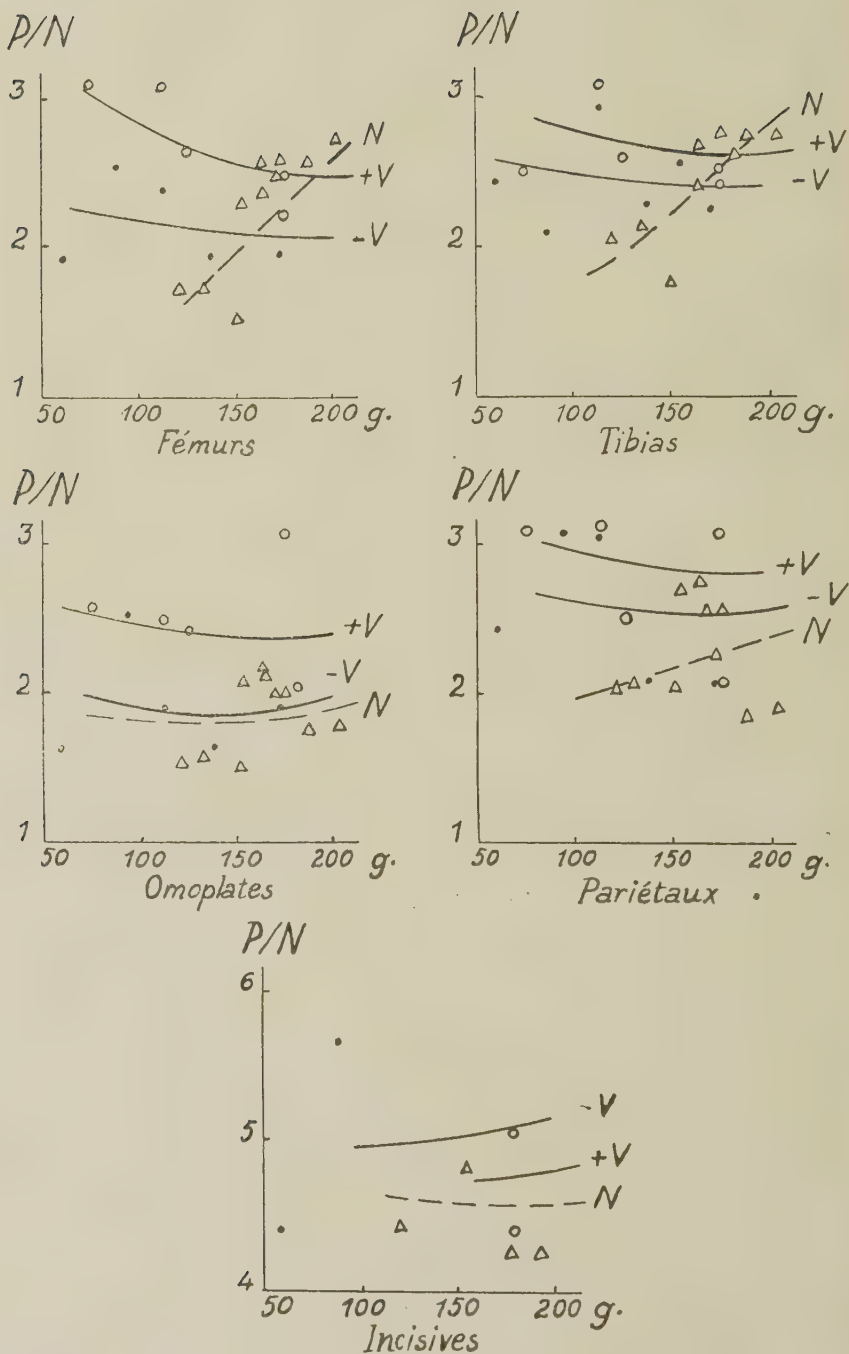
Normaux (N) Δ ; Avec vitamine (+V) $\circ$; Sans vitamine (-V).

FIGURE 9. — Courbes du rapport : P/N, de diverses pièces osseuses de Rats de RANDOIN-LECOQ (II) et de Rats normaux (valeurs moyennes) en fonction du poids des animaux.



Normaux (N) Δ ; Avec vitamine (+V) $\circ$; Sans vitamine (-V).

FIGURE 10. — Courbes du rapport : P/N de diverses pièces osseuses de Rats soumis au régime II + 2 p. 100 de Carbonate de calcium (III) et de Rats normaux (valeurs moyennes) en fonction du poids des animaux.



Normaux (N) Δ ; Avec vitamine (+V) $\circ$; Sans vitamine (-V).

FIGURE 11. — Courbes du rapport : P/N de diverses pièces osseuses de Rats soumis au Régime II + 4 p. 100 de Glycérophosphate de sodium (IV) et de Rats normaux (valeurs moyennes) en fonction du poids des animaux.

2. RÉGIMES DÉSÉQUILIBRÉS PAR EXCÈS DE CALCIUM. — Dans l'ensemble ces régimes sont à tous égards moins favorables à la croissance et à la minéralisation des os que les précédents. Les différences de composition des deux alimentations de ce type rendent nécessaires la dissociation des résultats obtenus dans l'un et l'autre cas :

a) *Régime modérément déséquilibré ($Ca/P = 3$)*. — L'action rachitigène de cette alimentation (régime de base de RANDOIN et LECOQ et mélange salin de PAPPENHEIMER) est bien connue chez les animaux en croissance. Elle se traduit à la fois par un ralentissement de celle-ci et par un défaut de minéralisation des os que nous avons retrouvé au cours de nos expériences. Dans les mêmes conditions le squelette des animaux adultes présente une tendance nette à la déminéralisation. Toutefois les modalités de ces phénomènes et l'action de la vitamine offrent des particularités assez remarquables. Les animaux recevant ce régime sans vitamine D ont des os longs (fémurs et tibias) dont la minéralisation est inférieure à celle des témoins. Les différences observées sont particulièrement marquées chez les Rats en croissance active, mais elles sont aussi nettes chez les animaux adultes. Il est donc certain *d'une part que les os néoformés sont pauvres en sels, et d'autre part que les os anciens se déminéralisent. L'administration de vitamine D permet toujours, même avec ce régime déséquilibré, une croissance normale, les os longs présentant alors un degré de minéralisation normal ou inférieur à celui des témoins.*

Il en va tout autrement si l'on considère les os plats. Ceux-ci sont à peu près identiquement minéralisés que les animaux reçoivent le régime R.-L. ou qu'ils appartiennent à l'élevage témoin. Le seul effet du régime R.-L. est de ralentir leur croissance sans toucher notablement à leur calcification. Tout se passe donc comme si la dystrophie affectait spécifiquement leurs os longs. Par contre lorsque l'on administre simultanément de la vitamine et du régime déséquilibré, les os longs sont normaux ou surminéralisés, tandis que les os plats sont plus pauvres en calcaire que chez les témoins même lorsque les animaux sont adultes ou préadultes. Ce fait ressort avec netteté des courbes reproduites sur la figure 9.

b) *Régime fortement déséquilibré ($Ca/P = 10$)*. — Cette alimentation provoque un arrêt de croissance chez le Rat, que

celui-ci reçoive ou non de la vitamine D, et on note en outre un amaigrissement net chez les animaux adultes. Dans l'ensemble l'administration de vitamine D paraît à cet égard défavorable.

Quant à la teneur en sels des os, elle présente des différences importantes suivant le degré de développement des animaux au début de l'expérience. *Chez les animaux jeunes les os cessent de croître, mais ils se surminéralisent, surtout en présence de vitamine D.* Par contre chez les adultes, on note une tendance nette à la déminéralisation que diminue l'adjonction de vitamine au régime. C'est là un fait méritant d'être noté, car il traduit une fixation importante des sels en dehors de toute croissance osseuse. Remarquons par ailleurs que l'action de la vitamine est beaucoup plus marquée sur les os plats que sur les os longs dans ces conditions, ce qui *a priori* permet de penser que c'est surtout l'ostéogénèse endochondrale de ceux-ci qui est sensible à l'action de la vitamine.

Au demeurant ce régime est très riche en calcium et peut être est-ce là l'origine de la surminéralisation qui va de pair avec son ingestion.

3. RÉGIME DÉSÉQUILIBRÉ PAR EXCÈS DE PHOSPHORE ($\text{Ca/P} = 0,7$) ET PAR EXCÈS DE RADICAUX ACIDES. — En l'absence de vitamine ce régime est mal toléré ; il provoque un léger amaigrissement des animaux adultes ou préadultes et une baisse de poids importante des animaux en croissance active. Il permet par contre la croissance peu rapide des animaux adultes quand on l'additionne de vitamine D.

Parallèlement les os longs de tous les animaux se déminéralisent en l'absence de vitamine, tandis qu'ils tendent à se surminéraliser en la présence de celle-ci. Mais le comportement des os plats est ici encore tout différent. Demeurant normal ou légèrement inférieur à la normale dans ce régime carencé, il traduit alors la conservation de ses sels ou une faible perte de ceux-ci dans une période de croissance ralentie. Par contre le gain en sels par adjonction de vitamine est alors plus net dans les os plats que dans les os longs, surtout chez les animaux jeunes.

Dans l'ensemble les gains ou les pertes du squelette en sels sont sous la dépendance étroite de la composition minérale du régime et de la présence ou de l'absence de vitamine D dans celui-ci ; mais, elles ne sont pas identiques toutes choses étant

égales d'ailleurs, dans les os longs et les os plats. La vitamine D permet dans une certaine mesure de corriger l'action dystrophique des déséquilibres salins ; elle est toujours favorable à la calcification osseuse dans les conditions où nous nous sommes placés. La relation directe de l'action de la vitamine et des déséquilibres salins avec la croissance osseuse est illustrée par le fait que le sujet présente une sensibilité à ces divers facteurs de dystrophie très inégale suivant son degré de développement.

Ce sont là les observations découlant de l'examen d'ensemble de nos résultats qui méritent d'être discutées.

B. — DISCUSSION DES RÉSULTATS.

1. SENSIBILITÉ COMPARÉE DES ANIMAUX EN CROISSANCE ET DES ADULTES AUX FACTEURS ALIMENTAIRES DE DYSTROPHIE ET A LA VITAMINE D. — Comme l'ont, à bien des reprises, fait remarquer MOURICQUAND et LEULIER, le rachitisme humain est une maladie affectant des sujets en période de croissance intense. En fait, il semble bien que tous les facteurs de dystrophie osseuse affectent beaucoup plus facilement le squelette au cours de son développement qu'à l'état adulte. A. ROCHE et I. GARCIA [61] ont pensé qu'il en était ainsi parce que le « tissu osseux fondamental » une fois constitué était à certains égard un tissu permanent, tandis que son organisation pouvait être facilement troublée. Il est probable que cette explication est exacte, mais aussi qu'elle est incomplète, car les remaniements haversiens font des os des organes en perpétuel état de « re-fonte », comme d'ailleurs les travaux d'HEVESY [27] l'ont démontré à l'échelle de la composition chimique.

Si l'on examine l'ensemble de nos résultats, on constate les faits suivants dans le cadre de ce problème :

a) *Les dystrophies provoquées par les divers régimes étudiés sont toujours beaucoup plus importantes chez les animaux jeunes que chez les animaux adultes en l'absence de vitamine.* C'est ainsi que, par exemple, le régime équilibré (Régime I) est toléré sans troubles importants par l'adulte, mais provoque un retard de croissance avec légère déminéralisation chez l'animal jeune. De même le régime R.-L. ne provoque qu'une perte en sels chez l'adulte tandis qu'il est rachitigène chez l'animal jeune et sa richesse en calcium (régime

III) empêche toute croissance, tandis qu'il n'a pour action qu'une perte en sels chez l'adulte. Enfin le déséquilibre par excès de phosphore ralentit la croissance de l'animal jeune sans affecter notablement sa calcification, tandis qu'il conduit à des pertes en éléments minéraux osseux chez l'adulte.

b) *Avec un régime équilibré, l'action favorable de la vitamine D se manifeste toujours plus intensément chez les animaux jeunes ou préadultes que chez les adultes où elle est assez minime.*

Il en est de même avec les régimes faiblement déséquilibrés par excès de calcium ($\text{Ca/P} = 3$) et plus encore quand ce déséquilibre est plus grand ($\text{Ca/P} = 10$) dans les os longs, le comportement des os plats présentant des particularités sur lesquelles nous reviendrons.

Avec un régime déséquilibré par excès de phosphore ($\text{Ca/P} = 0,7$) et de radicaux acides, la vitamine D aura dans tous les cas une action plus favorable chez les animaux en croissance que chez les adultes.

Comment interpréter ces faits ? Il n'est pas douteux qu'ils ne doivent être mis en relation avec l'affinité exceptionnelle du tissu osseux néoformé pendant la croissance à fixer des sels. On sait depuis longtemps que l'ossification endochondrale, telle qu'elle a lieu dans le cartilage de conjugaison des os longs, est particulièrement sensible au rachitisme tant pathologique qu'expérimental. Or cette ossification n'existe que chez les animaux jeunes puisque le cartilage de conjugaison disparaît à la fin du stade préadulte. Le fait que, dans un certain nombre de cas observés des animaux présentent un arrêt de croissance avec une surminéralisation de leurs os longs et une déminéralisation de leurs os plats semble relever du même mécanisme. Il va de soi que ces faits sont en accord avec l'hypothèse de la formation d'un os fondamental chez l'animal jeune, mais l'on ne saurait encore formuler à cet égard d'opinion définitive.

2. SENSIBILITÉ COMPARÉE DES OS LONGS ET DES OS PLATS AUX FACTEURS ALIMENTAIRES DE DYSTROPHIE ET A LA VITAMINE D. —

Dans la plupart de nos séries d'expériences, le comportement des os longs diffère à certains égards de celui des os plats. Les troubles de la calcification provoqués par les déséquilibres salins du régime affectent en général plus profondément

les premiers, surtout chez les animaux en croissance et en l'absence de vitamine. Quant à l'action de celle-ci, ses modalités ne sont pas identiques avec les divers régimes étudiés.

Avec l'alimentation équilibrée (Régime I) le bénéfice est notablement plus grand dans les os plats que dans les os longs quand les animaux ingèrent de la vitamine et les premiers sont plus pauvres en sels que les seconds si les aliments sont carencés. *Tout se passe alors comme si, le ravitaillement du squelette en sels étant relativement minime, les os longs en étaient les premiers bénéficiaires* et se calcifiaient seuls normalement. Par contre quand l'organisme dispose en abondance de vitamine D, les os longs n'améliorent pas leur minéralisation — peut être parce qu'elle a atteint un maximum physiologique — mais les os plats s'enrichissent notablement en sels. Ces derniers semblent en quelque sorte profiter d'un trop plein des os longs.

Ces faits sont en apparence contradictoires avec ceux que l'on observe dans le cas de régimes modérément déséquilibrés par excès de calcium ($\text{Ca/P} = 3$). En effet, les os longs sont alors, surtout chez les animaux en croissance, plus sensibles au déséquilibre du régime que les os plats ; mais par contre ceux-ci se déminéralisent lors de l'ingestion de vitamine tandis que les autres sont normaux ou légèrement hypercalcifiés. En réalité ce fait peut être interprété en accord avec les précédents. Chez les animaux adultes ni les uns ni les autres des os ne sont déminéralisés par emploi du régime, car les quantités de calcium et de phosphore apportées par celui-ci, bien que faibles, suffisent pour la couverture des besoins. Chez les animaux en croissance au contraire les os continuent à croître et se minéralisent mal ; comme le développement des fémurs et des tibias est alors beaucoup plus intense que celui des os plats, ces derniers sont notablement moins affectés par la dystrophie. Ils conservent leur taille et leurs éléments minéraux, tandis que les premiers s'allongent sans fixer les quantités de sels nécessaires à leur calcification normale. Mais si l'on administre de la vitamine D, les os longs deviennent alors aptes à se calcifier comme des os normaux, et ils fixent presque la totalité des sels disponibles ; peut être même, comme nous le verrons plus bas, prélèvent-ils sur les autres organes, les os plats compris, le matériel phosphocalcique nécessaire. S'il en était ain-

si, les os longs bénéficieraient, ici encore, des sels nécessaires à leur calcification, préférentiellement aux os plats.

Quant aux observations faites avec un régime très riche en calcium ($\text{Ca/P} = 10$), elles sont à cet égard moins nettes pour plusieurs raisons et particulièrement à cause de l'arrêt total de croissance provoqué par ces régimes chez les animaux jeunes et la difficulté qu'ont les animaux adultes à le tolérer ; néanmoins, dans l'ensemble, les animaux jeunes présentent alors une surminéralisation du squelette nette. Les animaux adultes recevant ce régime riche en calcium et de la vitamine D ont leurs os longs qui se déminéralisent plus que les os plats. Les premiers sont donc notablement plus sensibles au facteur de dystrophie que les seconds.

Enfin chez les Rats nourris avec des aliments contenant un excès de phosphore ($\text{Ca/P} = 0,7$) une différence entre les deux types d'os ne se manifeste qu'au cours des périodes où les animaux ont reçu de la vitamine D. Le bénéfice retiré par les os plats est alors plus grand que celui retiré par les os longs ; mais il convient de remarquer que même en l'absence de vitamine, le squelette présente un degré de minéralisation très voisin de celui des témoins, probablement en raison à la fois de la faiblesse du déséquilibre du rapport : Ca/P et de la richesse du régime en calcium et en phosphore.

De toute manière il ressort de ces données *que les os longs sont des organes plus sensibles aux facteurs de dystrophie et que leur calcification s'opère dans une certaine mesure préférentiellement à celle des os plats*. En effet, quand le régime apporte un large excès de matériel phosphocalcique, le gain du squelette en celui-ci porte principalement sur les os longs si le régime est pauvre en vitamine, les os plats ne s'enrichissant en sels que si l'utilisation de ceux-ci est accrue par l'administration de vitamine D. Si le régime est modérément déséquilibré, l'adjonction de vitamine permet la calcification des os longs de manière relativement spécifique. Enfin avec des déséquilibres très importants arrêtant totalement la croissance, les os longs seuls se surminéralisent.

Il semble donc qu'il y ait à cet égard une sorte de hiérarchie dans les divers organes du squelette. Les différences existant à ce sujet sont particulièrement importantes chez les animaux en croissance, mais ils persistent chez l'adulte. Dans le premier cas, elles peuvent être en partie rapportées à l'existence du car-

tilage de conjugaison, région dans laquelle l'ostéogénèse procède avec une extrême rapidité. Or, on sait que l'ossification endochondrale réside essentiellement en la transformation du cartilage hyalin en une substance apte à fixer les sels phosphocalciques ; il est donc légitime de penser qu'elle va de pair avec un « appel » du sel vers les os longs dans la période où ceux-ci se développent rapidement. Mais d'autres facteurs doivent nécessairement entrer en ligne de compte, puisque des différences notables persistent chez l'adulte. Or, on sait quel rôle important joue la circulation dans les processus d'ossification, tout particulièrement dans l'ostéolyse, et il est probable que des différences de conditions circulatoires existent dans les deux catégories d'os ou sont à la base de ces différences. Chez certains animaux adultes, tout se passe en effet comme si les os plats se déminéralisaient pendant que les os longs se chargent en sels ou demeurent normaux, ce qui tient sans doute à la plus grande vascularisation (lacunes sanguines) des premières. C'est là un phénomène analogue à celui noté par A. ROCHE et M. MOURGUE [63] au cours du rachitisme au Strontium chez l'adulte, à savoir : la plus forte déminéralisation des épiphyses que celles des dialyses dont la vascularisation est plus réduite.

3. SUR LE MODE GÉNÉRAL D'ACTION DE LA VITAMINE D. DÉSÉQUILIBRE SALIN DU RÉGIME ET VITAMINE D. — L'ensemble de nos observations fait ressortir l'action favorable de l'adjonction de la vitamine D sur la calcification des os longs et, lorsque le régime n'est pas trop fortement déséquilibré, sur celle des os plats. C'est là un fait en accord avec les résultats de SHERMANN et STUBELING [72] établissant que les Rats recevant un régime équilibré et riche en Ca et en P présentent des os plus fortement calcifiés, si on leur administre de la vitamine. Par ailleurs HESS et STEENBOCK ont, comme nous l'avons antérieurement rappelé, constaté que l'on peut obtenir une calcification normale du Rat en croissance recevant un régime rachitique modérément déséquilibré (type RANDOIN-LECOQ) si on adjoint à celui-ci de la vitamine D. Il convient donc de se demander comme l'ont fait de nombreux auteurs si l'action de celle-ci ne porte pas à la fois sur l'assimilation du matériel phosphocalcique et sur l'aptitude de l'os à fixer des sels, si, selon l'expression de BÉNARD, elle ne présente pas une action intestinale et une action squelettique.

Sans entrer ici dans une discussion sur la pathogénie du rachitisme humain, rappelons que, pour de nombreux médecins, en particulier E. ROMINGER [64], le principal facteur du rachitisme par avitaminose D serait le défaut de résorption du phosphore et du calcium. Cette théorie développée par HOWLAND, KRAMER et divers auteurs [31] est probablement insuffisante pour expliquer les troubles de la calcification osseuse au cours du rachitisme par avitaminose D. Elle contient pourtant une part importante de vérité comme le démontrent des recherches dues au biologiste norvégien NICOLAYSEN et à ses collaborateurs.

NICOLAYSEN s'est en effet attaché à établir dans une série de mémoires [53] que la carence en vitamine D provoque chez le Rat une diminution de la résorption intestinale du calcium, laquelle détermine une diminution de l'assimilation du phosphore par formation de $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$ dans l'intestin. Ces faits ne sauraient être discutés, car ils ont été directement observés; mais doivent-ils seuls être mis en cause ? NICOLAYSEN et JANSSEN [52] concluent d'une étude récente poursuivie à ce sujet que *« la densité de la calcification des os paraît être régie uniquement par la quantité de calcium et de phosphore apportée par le sang. Toutefois l'examen histologique des os montre que la vitamine D peut directement ou indirectement influencer dans une certaine mesure l'architecture osseuse »*. Il semble bien en être ainsi dans nos expériences, car la vitamine D permet un enrichissement en sel des os d'autant plus grand que l'apport exogène de matériel phosphocalcique est mieux équilibré, mais son action se manifeste néanmoins même si la calcification normale est impossible. C'est là un fait qui traduit probablement une action osseuse de la vitamine ; celle-ci est sans doute minime chez l'animal adulte car elle n'atteint alors que les réserves minérales, tandis qu'elle est importante au cours de la croissance ; c'est dire qu'elle doit alors particulièrement affecter l'organisation de la matrice protéique du tissu osseux fondamental.

L'action osseuse de la vitamine D semble évidente par ses conséquences, mais il est difficile de la démontrer directement. C'est à quoi ce sont pourtant attachés divers expérimentateurs par des recherches sur la fixation du calcium et du phosphore par l'os du Rat normal ou rachitique *« in vitro »*. A cet égard les expériences de SHIPLEY, HOWLAND et KRAMER [74] sont si-

gnificatives. Toutes concordent en effet à démontrer que le « pouvoir calcifiant » de l'os rachitique *in vitro* est diminué. Un faisceau d'arguments indirects vient à l'appui de cette manière de voir. On sait en effet que l'avitaminose D provoque une véritable diminution du « tropisme osseux » du matériel phosphocalcique tandis que l'ingestion de vitamine D le stimule parfois au point de drainer vers le squelette les constituants minéraux des tissus mous et de localiser dans les os le calcium et le phosphore d'origine exogène.

De très nombreux documents sur la composition du sang et des tissus ou des organismes totaux au cours du rachitisme par carence en vitamine D, de l'hypervitaminose D, ont été établis et démontrent ce fait et nous ne rapporterons ici que certains des plus significatifs. La teneur en phosphore des tissus demeure relativement fixe même après un certain temps d'alimentation à un régime rachitigène (G. MOURIQUAND, A. LEULIER et A. CŒUR [48] ; H. G. DAY et E. V. MAC COLLUM [11]). Par contre le calcium tissulaire est susceptible de varier notablement suivant le régime alimentaire. Ses variations sont des plus significatives en ce qui concerne sa participation directement à l'ossification ; aussi peuvent-elles dans certaines conditions donner une idée assez nette de « l'appel » de calcium vers l'os. Toutefois, l'abaissement de la teneur en phosphore des tissus après ingestion de régime pauvre en phosphore aurait été régulièrement observé dans certains cas en l'absence de vitamine D₂ (H. SCHNEIDER et A. STEENBOCK [68]). Des Rats recevant un régime pauvre en calcium ont une teneur totale en cet élément inférieure à ceux dont l'alimentation est normale (H. G. CAMPBELL, O. A. BESSEZ, H. C. SHERMANN [7]). Par contre on provoque un enrichissement progressif de l'organisme total du Rat en calcium en ajoutant des sels de ce métal à un régime de base contenant 0,47 p. 100 de P, de manière à ce que le rapport : Ca/P passe progressivement de 0,3 à 1,2 (L. B. WHITCHER, L. S. BOOHER et H. S. SHERMANN [82]). Avec un régime riche en calcium, des Rats peuvent atteindre en un mois de vie une teneur en calcium aussi élevée que celle présentée par les témoins au bout de six mois (C. S. LANDFORD et H. C. SHERMANN [35]). Or les pertes phosphocalciques ne sont pas seulement le fait de la déminéralisation squelettique, mais elle vont de pair avec un appauvrissement des tissus en ces éléments. Dans d'autres cas, comme l'hyper-

vitaminose D, on observe même une perte en sels du squelette et un enrichissement en phosphore et en calcium des tissus mous. Cette variabilité relative de la composition des tissus entre ces deux éléments permet de penser qu'il peut exister dans ceux-ci un certain « volant » de calcium et de phosphore. C'est là sans doute la raison pour laquelle chez le Rat en croissance la quantité de calcium alimentaire résorbée est en relation avec le degré de « saturation » en celui-ci des tissus au début de l'expérience et non pas directement proportionnelle aux quantités ingérées avec un régime équilibré (ROTTENSTEEN [67]). Or l'adjonction de vitamine D à un régime déséquilibré ou pauvre en sels provoque un enrichissement en ceux-ci des os longs, en partie aux dépens des tissus mous. Il existe donc alors une augmentation nette du « tropisme » des premiers pour le sels qui tient directement ou indirectement à la vitamine (SCHNEIDER et STEENBOCK [68]). C'est sans doute du même mécanisme que relèvent les mutations calciques de voisinage observées par MORELLE [45 b.]. Ces faits ne sont d'ailleurs pas importants pour la calcification osseuse puisqu'ils ne portent que sur des quantités minimales de phosphore et de calcium — dans le cas de ce dernier le squelette contient 99 p. 100 du calcium total de l'organisme chez le Rat — mais ils sont très suggestifs (O. A. BESSEY, C. G. KURG, E. J. QUINN et H. C. SHERMANN [1]). Notons enfin que le phénomène de décalcification des os plats au cours de la reminéralisation des os longs, que nous avons provoqué par adjonction de vitamine D au régime RANDOIN-LECOQ, démontre que la vitamine doit surtout exercer cette action sur l'ossification endochondrale au niveau du cartilage de conjugaison.

Il semble donc bien que *la vitamine D tient son rôle physiologique à la fois d'une activité squelettique et d'une activité intestinale*. Nous ne pouvons formuler encore aucune hypothèse au sujet du mécanisme de la première, et l'on ne saurait actuellement décider si elle est directe ou si elle s'exerce par l'intermédiaire de l'une des hormones dont la participation à la calcification est manifeste. Le fait que le cartilage de conjugaison est particulièrement intéressé et l'influence qu'exerce l'hormone thyroïdienne sur le développement de celui-ci suggère que cette dernière peut être mise en cause. Quant à l'action intestinale de la vitamine, son mécanisme est mal connu, mais ses modalités commencent à apparaître grâce aux

résultats des divers auteurs et à nos observations. De toute évidence la vitamine D exerce toujours dans les conditions où nous nous sommes placés, une action favorable à la calcification des os longs, mais l'intensité et les modalités de celle-ci sont subordonnées à la composition saline du régime et à l'âge des animaux.

4. SUR L'INFLUENCE DE LA COMPOSITION DU RÉGIME ET DE L'ÂGE DU SUJET SUR L'ACTION DE LA VITAMINE D. — Deux facteurs particulièrement importants entrent en ligne de compte dans les modalités d'action de la vitamine D. En effet celle-ci permet d'une part une régulation de la résorption intestinale du matériel phosphocalcique et, de ce fait, son rôle est nécessairement lié au ravitaillement alimentaire en celui-ci, et d'autre part, on peut prévoir qu'elle n'aura pas le même effet sur la croissance osseuse des animaux jeunes et sur le remaniement haversien de l'adulte.

La première de ces questions a déjà fait l'objet de nombreux travaux, auxquels le nôtre apporte un complément utile. Divers facteurs sont à considérer à cet égard : les quantités de phosphore et de calcium apportées par ce régime, le rapport : Ca/P et les autres caractères du régime agissant sur la résorption du phosphore et du calcium (rapport acide/base, teneur en lipides, etc...). *Dans l'ensemble la vitamine D « corrige » les déséquilibres alimentaires* (A. F. MORGAN [46]) et, comme l'ont établi BRUCE et CALLOW [6], HARRIS [25], *l'action de la vitamine D et celle des modifications de l'apport en phosphore et en calcium du régime se renforcent l'une l'autre quand elles agissent par ailleurs dans le même sens lorsque chacune est mise en œuvre isolément*. Lorsqu'on les fait agir ensemble, elles ont un effet plus grand que si chacune agit seule. Les résultats les plus significatifs obtenus jusqu'ici à cet égard sont ceux d'auteurs ayant expérimenté avec des régimes très pauvres en phosphore (H. SCHNEIDER et H. STEENBOCK [68] ; N. T. GRINDGEMANN, H. LEES et H. WILKINSON [23]). Pour les premiers il n'a pas été possible d'obtenir une croissance normale par administration de vitamine, mais celle-ci a permis une calcification normale des os jeunes. C'est également ce que nous observons lors d'expériences faites avec un des régimes très fortement déséquilibré par excès de calcium (Ca/P = 10), alors que lorsque Ca/P = 3 nous avons pu obtenir une croissance et une calcification normales des os longs au

détriment des os plats. Quant aux recherches de N. GRIDGEMAN, LEES et WILKINSON, elles établissent que la présence de corps gras dans un régime fortement déséquilibré par excès de calcium favorise l'action de la vitamine en « bloquant » une partie du calcium à l'état de savon, ce qui réduit les pertes intestinales en phosphore. Ce fait montre bien que *tous les facteurs alimentaires participant à la résorption intestinale du Ca et du P interfèrent dans l'action de la vitamine.*

Dans nos expériences il apparaît clairement que si la vitamine D a toujours une action favorable, au moins sur la calcification des os longs, celle-ci est en fonction de l'apport salin du régime, la composition des aliments demeurant par ailleurs constante. Avec le régime équilibré (Régime de base + sel d'OSBORNE) la croissance est plus rapide et la calcification plus intense. Il en est de même avec une alimentation modérément déséquilibrée (Ca/P) par excès de calcium, à ceci près qu'alors le bénéfice est localisé aux os longs. Dans le cas d'une alimentation avec un léger excès de radicaux acides, riche en phosphore et en calcium (Régime RANDOIN-LECOQ + 4 p. 100 de glycérophosphate de soude), la vitamine améliore la croissance et la calcification de l'ensemble du squelette, et lorsque le régime est très fortement déséquilibré par excès de calcium (Ca/P = 10) elle permet la calcification ou tout au moins elle réduit la perte en sels des os. Elle corrige donc toujours dans une certaine mesure les défauts du régime. Cette action peut être rapportée en grande partie à son action intestinale tandis que son action squelettique ressort nettement de la comparaison de ses effets sur les animaux adultes et sur les Rats en croissance. Ces derniers présentent une aptitude exceptionnelle à fixer des sels phosphocalciques, aptitude que traduit le fait suivant. Si l'on administre à des Rats en croissance des régimes de richesses diverses en calcium, les animaux jeunes présentent des teneurs en cet élément d'autant plus élevées qu'ils en ingèrent plus, les écarts extrêmes observés atteignent jusqu'à 50 p. 100 pour des animaux de même âge ; par contre avec les mêmes régimes les écarts ne dépassent pas 16 p. 100 chez les animaux adultes (C. S. LANDFORD et H. C. SHERMANN [35]). Cette sorte d'affinité du squelette des animaux jeunes pour les sels disparaît en grande partie chez l'adulte. Elle est caractéristique de la période où le squelette constitue intensément le « tissu osseux fondamental ». Nos recherches mon-

trent que la vitamine D est particulièrement active sur cette phase de l'ostéogénèse, mais aussi qu'elle est encore active quand, le tissu osseux fondamental formé, les adultes constituent des réserves. A cet égard nos recherches ne corroborent pas le point de vue de I. GARCIA pour laquelle la vitamine D aurait surtout comme action de favoriser la formation de réserves ; elle agit également sur celle-ci et sur la néoformation osseuse. En définitive tout se passe comme si *la vitamine D intervenait au niveau de l'os en stimulant le mécanisme général de l'ossification, tant en ce qui concerne la formation même de la substance osseuse (croissance) que la régulation d'un équilibre entre l'ostéolyse et l'ostéogénèse (adulte), lequel est sous la dépendance de la calcémie et de la phosphatémie*, donc, de facteurs multiples, exogènes (régime) et endogènes (hormones).

A cet égard nos expériences n'ont pas permis une dissociation des réserves et du tissu osseux fondamental aussi nette que nous l'espérions, mais elles en ont néanmoins permis une, en ce sens que le comportement de l'adulte dans nos diverses conditions d'étude est à beaucoup d'égards particulier. La vitamine D ne favorise la formation du tissu osseux fondamental que si le régime est équilibré ou faiblement déséquilibré. Dans le cas contraire ($\text{Ca/P} = 10$) l'os des animaux jeunes cesse de croître, mais organise des réserves en sa présence, tandis qu'en son absence il se minéralise moins bien. Mais à ce cas près, permettant d'affirmer que la vitamine favorise la formation de réserves, elle a toujours agi simultanément sur celles-ci et sur la genèse du tissu fondamental. D'ailleurs on s'explique qu'il ne puisse guère en être autrement. Puisqu'elle permet une meilleure assimilation du matériel phosphocalcique alimentaire, il va de soi qu'elle soit nécessairement favorable à tout processus osseux dont l'intensité est en partie fonction du ravitaillement en celui-ci. C'est là d'ailleurs la raison pour laquelle elle améliore la calcification des cals de fracture sans en hâter la consolidation (ROCHE et MOURGUE [63]).

Nos expériences ont une conséquence thérapeutique méritant d'être signalée. La vitamine D est administrée en général à doses assez faibles et indépendamment de considérations sur la nature du régime. Par ailleurs son usage médical chez l'adulte est très restreint. Or, les faits que nous avons établis montrent quel bénéfice il est possible d'en tirer chez l'adulte

comme chez les sujets en cours de développement. Il convient toutefois de faire ressortir combien il importe de lui adjoindre un mélange salin équilibré en quantité abondante pour lui permettre d'exercer son action dans les conditions les plus favorables.

V. — Résumé et Conclusions.

L'étude de l'action de la vitamine D sur la calcification des os longs et des os plats au cours des deux grandes périodes de l'évolution du squelette a été poursuivie sur des Rats soumis à divers régimes. De nombreux travaux ayant en effet démontré que l'action de la vitamine D sur la calcification des os est liée à la composition des aliments et en particulier à la valeur du rapport : calcium/phosphore dans ceux-ci, nos animaux ont été soumis à des régimes inégalement déséquilibrés administrés avec ou sans addition de vitamine D.

Les conclusions générales qui peuvent être tirées de l'ensemble de nos recherches sont les suivantes :

A. — Le squelette des animaux en croissance et celui des adultes présente une sensibilité différente aux facteurs alimentaires des dystrophies osseuses (déséquilibres salins du régime et carence en vitamine D) et à l'action préventive de fortes doses de vitamine D (4.000 Unités Internationales par jour) sur l'organisation de ces dystrophies.

B. — Dans l'ensemble, l'usage prolongé des régimes déséquilibrés provoquant une déminéralisation chez l'adulte conduit chez les animaux jeunes soit à un ralentissement de la croissance avec néoformation d'un os pauvre en sels, soit à un arrêt de celle-ci avec surminéralisation, donc, en tout cas, à une fixation de phosphate tricalcique par le squelette.

L'administration de fortes doses de vitamine D a, dans les conditions où nous nous sommes placés, toujours un effet favorable sur la calcification des os des animaux jeunes et, sauf quand le déséquilibre est considérable (régime III), sur leur croissance. Chez les animaux adultes, elle permet, suivant la nature du régime, un stockage modéré des sels dans les os ou une diminution des pertes du squelette en matériel phospho-calcique.

L'action de la vitamine D corrige donc, dans une certaine

mesure celle des déséquilibres salins étudiés. Elle s'exerce probablement à la fois sur la résorption du calcium et du phosphore alimentaire, (action intestinale) et sur les processus d'ostéogénèse (action osseuse), peut-être par l'intermédiaire de facteurs hormonaux.

C. — La vitamine D semble pouvoir être médicalement expérimentée à dose beaucoup plus forte qu'on ne le fait actuellement, à condition de lui adjoindre des mélanges salins équilibrés ($\text{Ca/P} = 1.5$). Toutefois cette thérapeutique ne doit pas être mise en œuvre de manière identique chez des sujets en croissance et chez des adultes. Les os de ces derniers présentant une aptitude à la déminéralisation plus grande que ceux des premiers, il conviendra, pour que la vitamine D agisse efficacement comme agent de calcification du squelette chez l'adulte, de l'administrer avec des quantités de mélange salin équilibré ($\text{Ca/P} = 1.5$) beaucoup plus grandes que celles nécessaires à son action préventive ou curative sur les dystrophies des animaux en croissance. Des essais thérapeutiques mériteraient d'être poursuivis d'une part avec les diverses vitamines D pures et, d'autre part avec diverses préparations de vitamine D d'origine naturelle. Il est en effet possible que l'un de ces produits soit mieux toléré que les autres par l'organisme humain.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

En dehors des conclusions particulières aux deux chapitres de notre travail, les résultats obtenus peuvent donner lieu à quelques commentaires d'ensemble sur la physiologie et la biochimie de l'ossification.

Considérés d'un point de vue très général, la formation du squelette et le maintien de son intégrité sont des processus dans lesquels l'unité physiologique du système osseux se manifeste dans tous les organes qui le constituent. Non seulement le mécanisme biochimique de l'ossification est identique dans toutes les pièces squelettiques, même si leur structure histologique diffère, mais en outre la calcification de celles-ci subit au cours de la vie des variations qui les atteignent toutes simultanément. C'est dire que développement et minéralisation des os sont sous l'étroite dépendance des mêmes facteurs, nécessairement endogènes, et dont la nature hormonale apparaît comme probable. Cette notion, d'ordre physiologique, permet de comprendre, comme on l'a vu, la plus grande sensibilité des os aux facteurs de dystrophie à certaines époques de la vie. En relation directe avec le problème du mécanisme de l'ossification, elle ne le résout pas.

Ce problème apparaît comme étant de plus en plus complexe au fur et à mesure que les recherches poursuivies à son sujet s'étendent. L'aspect biochimique de la formation du complexe salin que nous avons désigné avec la plupart des auteurs sous le nom de « sel de l'os » est déjà moins obscur : la nature du sel de l'os, le rôle de la phosphatase dans sa formation sont à peu près complètement éclaircis. Mais le mécanisme de l'équilibre entre l'ostéolyse et l'ostéogénèse, équilibre réglant toute la vie de la substance osseuse, est encore inconnu. Quant à la genèse et à l'évolution de la matrice protéique de cette dernière, seul leur aspect morphologique a pu être déjà étudié. Les recherches que nous avons poursuivies sur l'action de la vitamine D chez des animaux d'âges divers

recevant des régimes normaux ou déséquilibrés en sels permettent d'envisager avec objectivité la multiplicité des facteurs auxquels on se heurte dans l'étude de l'ossification. L'action de cette vitamine repose en effet à la fois indirectement sur le ravitaillement de la substance osseuse en sels, puisqu'elle règle la résorption intestinale de ceux-ci, et sur la formation de la substance osseuse, peut-être par une action hormonale directe. Ce seul exemple illustre la complexité des problèmes physiologiques posés par l'ossification et à *fortiori*, par l'étiologie des maladies osseuses.

Ces faits ne doivent pas décourager les chercheurs, car c'est grâce à leur analyse patiente qu'il sera possible de dissocier tous les éléments participant à l'ostéogénèse, puis de comprendre par une vue d'ensemble synthétique le mécanisme de celle-ci et de ses troubles. Aussi espérons-nous que notre contribution à l'étude de la biochimie de l'ossification, bien que modeste dans ses résultats, n'en sera pas moins utile.

Vu :

Le Président,
Jean ROCHE.

Vu et approuvé :

Le Doyen,
L. CORNIL.

Vu et permis d'imprimer :

Aix, le 3 août 1940,
Le Recteur,
E. GAU.

BIBLIOGRAPHIE.

1. BESSEY (O. A.), KING (L. G.), QUINN (E. J.) and SHERMANN (H. C.). — The normal distribution of calcium between the skeleton and soft tissues. *The Journ. of biol. Chem.*, 1935, **111**, 115-118.
2. BILLS (E. C.) and WIRICK (A. M.). — Long time feeding experiments with activated ergostérol. *The Journ. of biol. Chem.*, 1930, **86**, 117-128.
3. BLUM (L.), DELAVILLE (M.) et Van CAULAERT (C.). — Sur la pathogénie du rachitisme. Rapport entre les phénomènes d'ossification et de décalcification et l'état physico-chimique du sang. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, **92**, 184.
4. BOGERT (L. G.) and HASTINGS (A. B.). — The calcium salts of bone. *The Journ. of biol. Chem.*, 1931-1932, **94**, 473-481.
5. BROOKE (R.), SMITH (A.) and SMITH (P.). — Inorganic salts in nutrition. *The Journ. of biol. Chem.*, 1934, **104**, 141-148.
6. BRUCE (H. M.) and CALLOW (R. K.). — Interaction of vitamin D and dietary factors in the healing of rickets in rats. *Biochem. Journ.*, 1934, **28**, 512-516.
7. CAMPBELL (H. G.), BESSEY (O. A.) and SHERMANN (H. C.). — Adults rats of low calcium content. *The Journ. of biol. Chem.*, 1935, **110**, 703-706.
8. CHABRE (P.). — Les huiles de foie de morue. Leur teneur en vitamines A et D. 1936. Masson et Cie édit., 207 p.
9. CHOSSAT. — Note sur le système osseux. *C. R. Acad.*, 1842, **14**, 451-453.
10. COHN (W. E.) and GREENBERG (D. M.). — Studies in mineral metabolism with the aid of radioactives isotopes. III. The influence of vitamin D on the phosphorus metabolism of rachitic rats. *The Journ. of biol. Chem.*, 1939, **130**, 625-634.
11. DAY (H. G.) and Mac COLLUM (E. V.). — Mineral metabolism, growth and symptomatology of rats on a diet extremely poor in phosphorus. *The Journ. of biol. Chem.*, 1939, **131**, 269-284.
12. DENIS (W.) et MINOT (A. S.). — *Arch. Inter. Méd.*, 1920, **26**, 99, cité par LABBÉ et FABRIKANT [**16**].
13. DUMAZERT (C.) et MARCELET (Y.). — Sur un nouveau catalyseur de minéralisation en vue du dosage de l'azote par la méthode de Kjeldhal. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1938, **20**, 201-216.
- 13 bis. EDEL (V.). — Recherches cliniques et thérapeutiques sur le rachitisme. *Thèse Méd.*, Lyon, 1939, 61 p., Bosc et Riou éd., Lyon.

14. FILIPPI (A.). — Recherches sur la participation d'une phosphatase à la calcification des os longs et à la réparation de leurs fractures. *Thèse Pharm.*, Marseille, 1938. Patissier édit., 114 pages.
15. FLORENTIN (P.). — Le problème de l'ostéogénèse normale. *Biol. Méd.*, Vol. XXV, n° 6 1935, 321-349.
16. FORSTER (J.). — *Zeits. Biol.*, 1876, **12**, 464, cité par LABBÉ et FABRYKANT. « Le phosphore » Masson et Cie édit., 1932, 396 pages.
17. FREUDENBERG et GYORGY cité par SCHOEN (J.). — Les fixateurs du calcium chez l'enfant. *Thèse Méd.*, Lyon 1927, Bosc et Riou édit., 187 pages.
18. GARCIA (I.). — Recherches sur l'ossification. *Thèse Doct. Sc. nat.*, Montpellier, Patissier édit., 1935, 248.
19. GARCIA (I.). — Essai d'étude chimique du rapport : squelette/masse active de l'organisme, au cours de la croissance et de diverses carences. *Thèse Pharm.*, Marseille, 1935, Sémaphore édit., 128 p.
20. GABRIEL (G.). — *Z. physiol. chem.*, 1894, **18**, 257. Cité par POLICARD (A.) et ROCHE (J.) dans : La formation de la substance osseuse. Essai de coordination des données histologiques et biochimiques. *Ext. Ann. Physiol. et Physicochim. biol.*, 1937, **13**.
21. GASSMANN. — Cité par KAY (H. D.). — The chemistry and metabolism of the compounds of phosphorus in animals. *Ann. Rev. of Biochem.* **1**, 1932, 1 vol., 190 p. Stanford University press, U. S. A.
22. GOLDBLATT (H.). — A study of the relation of the quantity of fat soluble organic factor in the diet to the degree of calcification of the bones and the developpement of experimental rickets in rats. *Biochem. Journ.*, 1923, **17**, n° 2, 298.
23. GRIDGEMANN (N. T.), LEES (N.) and WILKINSON (H.). — The biological assays of low potency materials with special reference to the role of the mineral content of the diet., *Biochem. Journ.*, 1939, **33**, 645-654.
24. MARRISSON (D. C.) and MELLANBY (S.). — Phytic acid and the rickets producing action of cereals. *Journ. of biol. Chem.*, 1939, **33**, 1660-1680.
25. HARRIS (L. J.). — Vitamins, in *Ann. Rev. Biochem.*, 1933, **2**, 253-298.
26. HESS (A.). — Rickets including osteomalacia and tetany. 1 vol., 485 p., H. Kimpton édit., London 1930.
27. HEWESY (G.). — Applications of isotopes in Biology. *The Journ. of biol. Chem.*, 1939, **127**, 1213-1224.
28. HOLT (L.), LA MER (V.) and CHOWN (B.). — Delayed equilibrium between the calcium phosphates and its biological significance. *The Journ. of biol. Chem.*, 1925, **64**, 567-578.
29. HOLT (L.), LA MER (V.) and CHOWN (B.). — Studies of calcification. I. The solubility product of secondary and tertiary

- calcium phosphate under various conditions. *The Journ. of biol. Chem.*, 1925, **64**, 509-564.
30. HOPPE SEYLER (F.). — Cité par BLANCHETIÈRE (A.). — Les principes immédiats des êtres vivants. IV. Les Constituants minéraux. *Traité de physiologie* (Roger et Binet), 1932, **1**, 774-779. Masson et Cie édit.
 31. HOWLAND (J.) and KRAMER (B.). — Factors concerned in the calcification of bones. *Trans. Amer. Ped. Soc.*, 1922, 134-204.
 32. HULDSCHINSKY. — HESS et STEENBOCK cités par LEHNARTZ (E.) [36].
 33. KLEMENT. — Cité par KAY (H. D.) [21].
 34. KORENCHEVSKY (V.). — Experimental rickets in Rats. *Brit. Med. Journ.* 1921, 547. — Cité par LABBÉ et FABRYKANT [16].
 35. LANDFORD (C. S.) and SHERMANN (H. C.). — Further studies of the calcium content of the body as influenced by that of the food. *The Journ. of biol. Chem.*, 1938, **126**, 381-388.
 37. LOGAN (M. A.) and TAYLOR (H. L.). — Solubility of bone salt. *The Journ. of biol. Chem.*, 1937, **119**, 293-307.
 38. LOGAN (M. A.). — Composition of cartilage, bone, dentin and errawel. *The Journ. of biol. Chem.*, 1935, **110**, 375-389.
 39. LOGAN (M. A.) and KANE (L. W.). — Solubility of bone salt. IV. Solubility of bone in biological fluids. *The Journ. of biol. Chem.*, 1939, **127**, 705-710.
 40. LOWATER (F.) and MURRAY (M. M.). — Chemical composition of teeth V. Spectrographie Analysis. *Biochem. Journ.*, 1937, **31**, 837-841.
 41. MAREK (J.), WELLMANN (O.) und URBANYI (L.). — Chemischer Aufbau der Knochensalze bei gesunden und bei rachitischen Tieren. *Zeit. physiol. Chem.*, 1934, **226**, 3-17.
 42. Mac CLURE (F. J.) and MITCHELL (H.). — The effect of fluorine on the calcium metabolism of albino rats and the composition of the bones. *The Journ. of biol. Chem.*, 1931, **90**, 297-320.
 43. Mac CANN (G.) and BARNETT (M.). — Experimental rickets in rats. IX. The distribution of phosphorus and calcium between the skeleton and soft parts of rats on rachitic and non rachitic diets. *The Journ. of biol. Chem.*, 1922, **54**, 203-211.
 44. MANBY (M. L.) and BALE (W. F.). — The metabolism of inorganic phosphorus of rat bones and teeth as indicated by the radioactive isotope. *The Journ. of biol. Chem.*, 1939, **129**, 125-134.
 45. MELLANBY. — Cité par LEHNARTZ (E.) [36].
 - 45 bis MORELLE (J.). — Mutations calciques dans la guérison du rachitisme expérimental. *Rev. belg. Soc. Méd.*, 1931, **3**, n° 7, 1-8.
 46. MORGAN (A. F.). — The effect of acid, neutral, and basic diets on the calcium and phosphorus metabolism of dogs. *University of California publ. in Physiol.*, 1934, **8**, 61-106.

47. MOURGUE (M.). — Recherches biochimiques sur les fractures osseuses expérimentales. *Thèse Doct. Pharm.*, Marseille, 1939, 117 p., Declume édit., Lons-le-Saunier.
48. MOURIQUAND (G.), LEULIER (A.) et CŒUR (A.). — Recherches sur la pathogénie du rachitisme (Modifications du cycle du cholestérol du phosphore, du potassium, de la masse splénique et rôle des antifixateurs et fixateurs du calcium dans le rachitisme expérimental. *Ann. Méd.*, 1938, **43**, 165-186.
49. MOURIQUAND (G.) et LEULIER (A.). — Le métabolisme et les fixateurs du calcium chez l'enfant. *Congrès de Méd. de Liège*, 1930, 36-91.
- 49 bis. MOURIQUAND (G.), LEULIER (A.) et ROCHE (A.). — Magnésium et rachitisme expérimental. *C. R. Soc. Biol.*, 1931, **107**, 676.
50. MORGULIS (S.). — Studies on the chemical composition of bone ash. *The Journ. of biol. Chem.*, 1931, **93**, 455-466.
51. NICOLAYSEN (R.). — Untersuchungen über die Kalkausscheidung bei Hunden. *Skand. Arch. f. physiol.*, **69**, suppl. 66 p., 1934.
52. NICOLAYSEN (R.) and JANSEN (J.). — Vitamin D and bone formation in the rat. *Acta paediatrica*, 1939, **23**, 405-433.
53. NICOLAYSEN (R.). — Studies upon the mode of action of vitamin D. I. Investigations upon the phosphorus compounds of muscles, liver, kidney as influenced by different levels of vitamin D and phosphorus in the diet. — II. The influence of vitamin D on the foecal output of endogenous calcium and phosphorus in the rat. — III. The influence of vitamin D on the absorption of calcium and phosphorus in the rat. — IV. The absorption of calcium chloride, xylose and sodium sulphate from isolated loops of the small intestine and of calcium chloride from the abdominal cavity of the rat. — V. The absorption of phosphate from intestinal loops of the small intestine of the rat. *Biochem. Journ.* 1936, **30**, 1329-1337. *Ibid.* 1937, **31**, 107-121, 122-129, 323-328 et 1086-1088.
54. POLICARD (A.) et ROCHE (J.). — La formation de la substance osseuse. *Ann. Physiol. et Physicochim. biol.*, 1937, **13**, 645-703.
55. POLICARD (A.). — Cité par ROCHE (J.). — [58].
56. RANDOIN (L.) et LECOQ (R.). — Constitution d'un nouveau régime artificiel pour l'étude du rachitisme expérimental. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, **97**, 1277-1280.
57. ROBISON (R.). — The significance of phosphoric esters in metabolism, 1 vol., 104 p., New-York Univ. Press., éd., 1932.
- 57 bis. ROCHE (A.). — Etude du bilan phosphoré chez le Rat soumis à un régime rachitigène riche en calcium, magnésium ou en strontium. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, **14**, 634-642.
58. ROCHE (J.). — Quelques aspects biochimiques de l'ossification. *Ann. et Bull. Soc. Roy. Sc. Méd. et Nat., Bruxelles*, 1937, n^{os} 3 et 4, 23-47.

59. ROCHE (J.) et FILIPPI (A.). — Augmentation de l'activité phosphatasique du squelette après fracture d'un os et biochimie générale du système osseux. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1938, **20**, 1147-1165.
60. ROCHE (J.), FILIPPI (A.) et LÉANDRI (A.). — Recherches sur l'ossification. III. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1937, **19**, 1314-1324.
61. ROCHE (A.) et GARCIA (I.). — Recherches sur l'ossification. I. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1936, **19**, 1014-1026.
62. ROCHE (J.) et MARCELET (Y.). — Nature du régime et action de la vitamine D chez l'animal en croissance et chez l'adulte. *Comm. Congrès français Médecine*. XXV^e Session. Marseille 1938, 333-336.
63. ROCHE (J.) et MOURGUE (M.). — Action comparée de l'hormone parathyroïdienne et de la vitamine D sur la consolidation des fractures osseuses expérimentales. *C. R. Soc. biol.*, 1939.
64. ROMINGER (S.). — Physiologie und Pathologie des D Vitamins, *Ergebn. d. Hormon. und Vitaminforsch.*, 1939, **2**, 104-109. 1 vol., Akad. Verlagsges, ed., M. B. H. Leipzig.
65. RONA (P.) et TAKAHASHI (D.). — Beitrag zur Frage nach dem Verhalten des Calciums im Serum. *Bioch. Zeit.*, 1913, **49**, 370-382.
66. ROSEBERRY (H.), HASTING (A.) and MOORE (J. K.). — X Ray analysis of bone and teeth. *The Journ. of biol. Chem.*, 1931, **90**, 395-406.
67. ROTTENSTEEN (V.). — The effect of body stores on the efficiency of calcium utilisation. *Biochem. Journ.*, 1938, **32**, 1285-1292.
68. SCHNEIDER (H.) and STEENBOCK (H.). — A low phosphorus diet and the response of rats to vitamin D₂. *The Journ. of biol. Chem.*, 1939, **128**, 159-171.
69. SCHULTZER (P.). — Le phosphore et le calcium minéral de rats rachitiques sous l'influence de différents traitements. *C. R. Soc. biol.*, 1925, **81**, 1002-1010.
70. SHEAR (M. J.) and KRAMER (B.). — Composition of bone. I. Analytical micromethod. *The Journ. of biol. Chem.*, 1928, **79**, 105-120.
71. SHEAR (M. J.) and KRAMER (B.). — Composition of bone. Physico-chemical mechanism. *The Journ. of biol. Chem.*, 1928, **79**, 125-143.
72. SHERMANN (H.) and STUBELING. — *The Journ. of biol. Chem.*, 1932, **88**, 683. Cité d'après [18].
73. SHERMANN (H.) and PAPPENHEIMER (A.). — A dietetic production of rickets in rats and its prevention by an inorganic salt. *Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.*, 1921, **18**, 193.
74. SHIPLEY (P. G.), KRAMER (B.) and HOWLAND (J.). — Studies upon calcification *in vitro*. *Biochem. Journ.*, 1926, **20**, 379.
75. SHIPLEY (P. G.), KRAMER (B.), HOWLAND (J.) and ROBINSON (R.). — Cités par ROCHE (J.) [58].
76. SHOHL (A. T.), BENNETT (H. B.) and WELD (K. L.). — Rickets in rats ; comparaison of effects of irradiated ergosterol and cod liver oil. *Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.*, 1928, **25**, 551.

77. SHIPPLEY (P.), PARK (E.), Mac COLLUM (E.) and SIMMONDS (N.). — Studies in experimental rickets. III. A pathological condition bearing fundamental resemblances to rickets of the human being resulting from diets low in phosphorus and fat soluble A. The phosphate ion in its prevention. *Johns Hopk. Hosp. Bull.*, 1921, **32**, 160.
 78. STEENBOCK (H.), KLEITZEIN (S. W.) and HALPIN (J.). — The reaction of the chicken to irradiated ergosterol and irradiated yeast as contrasted with natural vitamin D, and fish liver oils. *The Journ. of biol. Chem.*, 1932, **99**, 249-256.
 79. TAYLOR and SHARD. — Cité par KAY (H. O.). — The chemistry and metabolism of the compounds of phosphorus animal. *Ann. Rev. of Biochem.*, 1 vol. 193 p. Stanford University Press, U. S. A.
 80. TEISSIER (G.). — Les lois quantitatives de la croissance. *Ann. Physiol. et Physicochim. biol.*, 1936, **12**, 527-574.
 81. Van SLYKE (D. D.) et PETERS (J. P.). — Cités par ROCHE (A.) et GARCIA (I.) [**61**].
 82. WHITCHER (L. B.), BOOHER (L. S.) and SHERMANN (H. S.). — Further studies on the calcium, content of the body in relation to the calcium and phosphorus content of the diet. *The Journ. of biol. chem.*, 1936, **115**, 679-684.
-

IMPRIMERIE M. DECLUME
LONS-LE-SAUNIER.

Imprimé en France.

